Retrotranspozoni kao regulatori ekspresije gena

Rimanić, Hana

Undergraduate thesis / Završni rad

2017

Degree Grantor / Ustanova koja je dodijelila akademski / stručni stupanj: **University of Zagreb, Faculty of Science / Sveučilište u Zagrebu, Prirodoslovno-matematički fakultet**

Permanent link / Trajna poveznica: https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:217:281497

Rights / Prava: In copyright / Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-03-29**

Repository / Repozitorij:

Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb

HANA RIMANIĆ

3. godina Preddiplomskog sveučilišnog studija Molekularna biologija

Biološki odsjek
Prirodoslovno-matematički fakultet
Sveučilište u Zagrebu

RETROTRANSPOZONI KAO REGULATORI EKSPRESIJE GENA

Seminarski rad

Rad je izrađen u Zavodu za molekularnu biologiju

Mentor rada: doc. dr. sc. Ivana Ivančić Baće

Zagreb, 2016.

SADRŽAJ

1. UVOD.....3

1.1 Retrotranspozoni.....3

1.2 Elementi LINE i SINE.....4

2. ULOGA RETROTRANSPOZONA U EKSPRESIJI GENA.....5

2.1 Regulacija transkripcije i strukture kromatina 5

2.2 Regulacija post-transkipcijskog procesiranja RNA..... 6

2.3 Lokalizacija mRNA i translacija.....8

2.4 Utjecaj A-do-I uređivanja na funkciju SINE elemenata.....9

2.5 Mehanizmi obrane domaćina od retrotranspozicije.....11

3. ZAKLJUČAK.....12

4. LITERATURA 13

5. SAŽETAK 15

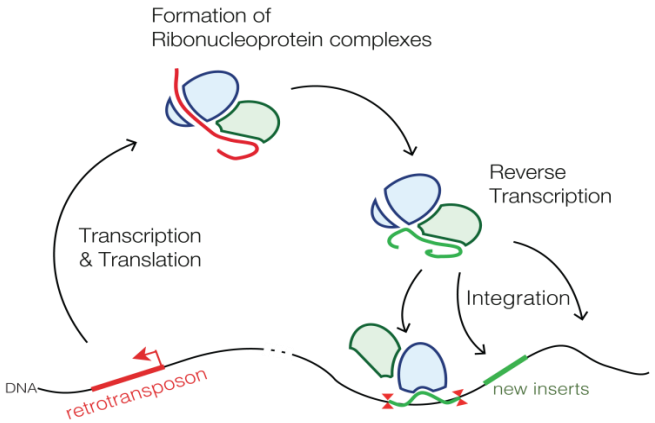
6. SUMMARY.....16

1 UVOD

Genom je podložan raznim promjenama koje se događaju na molekularnoj razini te manje ili više utječu na fenotip organizma. Te promjene mogu biti u sekvenci DNA ili epigenske. Promjene u sekvenci DNA mogu nastati iz pogrešaka prilikom replikacije, nekim od mehanizama za popravak DNA ili ugradnjom nekog pokretnog DNA elementa - transpozona ili retrotranspozona. Ovi pokretni elementi ovisno o mjestu ugradnje i vlastitoj sekvenci DNA mogu na različite načine utjecati na ekspresiju gena: mogu pojačati ili smanjiti aktivnost gena, inaktivirati ga ili uopće ne imati značajan utjecaj na njegovu ekspresiju. Ovaj rad se bavi načinima na koji retrotranspozoni, vrsta pokretnih genetičkih elemenata koji se transponiraju putem RNA intermedijera, utječu na regulaciju ekspresije gena te kako su njihove sposobnosti da restrukturiraju genome, aktiviraju ili utišaju gene i široka rasprostranjenost u eukariotskim genomima imali ulogu u genetičkoj evoluciji.

1.1 Retrotranspozoni

Retrotranspozone možemo podijeliti u tri glavne skupine; LTR (*long terminal repeat*) retrotranspozoni koji su viralnog podrijetla i repliciraju se slično retrovirusima, elementi LINE (eng. long intrspersed elements) i SINE (eng. short interspersed elements). Skupa čine gotovo 50 posto humanog genoma**.** U ovom radu se konkretno bavimo LINE i SINE retrotranspozonima koji se repliciraju „copy and paste“ mehanizmom i za kretanje po genomu trebaju enzime reverznu transkriptazu i endonukleazu (Slika 1).[1]



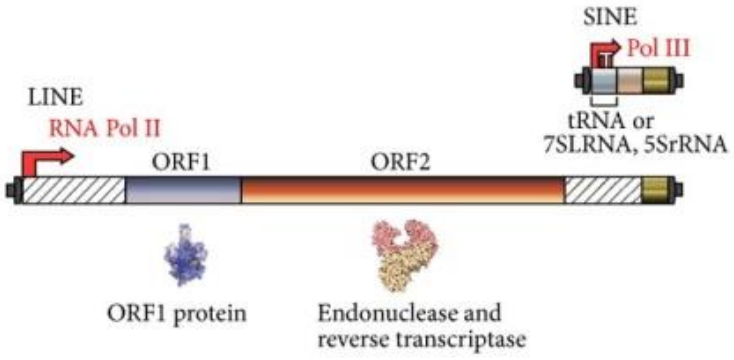
Slika 1. Prvi korak replikacije je transkripcija s RNA polII i translacija („copy“), a zatim reverzna transkripcija i insercija u ciljno mjesto DNA reverznom transkriptazom i endonukleazom („paste“).[2] Preuzeto iz Wikipedia-Retrotransposition.

1.2 Elementi LINE i SINE

Elementi LINE su nastali od transkripata RNA polimeraze II, veliki su nekoliko tisuća parova baza i kažemo da su autonomni zato što sadrže dva okvira čitanja (eng. ORF, *open reading frame*), od kojih ORF1 kodira za RNA-vezujući protein, a ORF2 za protein s aktivnošću reverzne transkriptaze i endonukleaze (Slika 2). LINE transkript sadrži poli-A rep na 3' kraju koji endonukleaza prepoznaje, radi cik-cak urez na genomskoj DNA, a zatim reverzna transkriptaza koristeći 3' kraj LINE transkripta reverzno prepisuje u ciljnu DNA. Tako dobivamo ugrađenu kopiju RNA transkripta u genomskoj DNA.[3]

Elementi SINE su nastali od transkripata RNA polimeraze III, veličine su od 85 do 500 bp i ne kodiraju za nikakve enzime pa zato kažemo da su neautonomni. Oni za retrotranspoziciju „posude“ enzime od elemenata LINE. To se događa tako da enzimi prepoznaju sekvencu na 3' kraju SINE RNA koja je slična onoj u LINE RNA te ju na isti način kao i LINE RNA prepišu u genomsku DNA.[4] Najpoznatiji elementi SINE kod primata su *Alu*. Elementi *Alu* su dugi oko 350 parova baza i nazvani su po restrikcijskom enzimu *AluI* koji ih prepoznaje. Njihova distribucija po genomu je povezana s nekim genskim poremećajima i tumorima.[5]

Ove dvije obitelji retrotranspozona zajedno čine oko 30% ljudskog genoma i nisu nasumce raspršeni po genomu. Elementi SINE se najčešće nalaze u regijama DNA koje su bogate genima, dok se elementi LINE nalaze u intergenskim regijama. Smatra se da je razlog tome što se u genskim regijama ne preferira insercija velikih sekvenci poput elemenata LINE, dok se kratke sekvence bolje toleriraju.[6]



Slika 2. Shematski prikaz SINE i LINE elementa s istom sekvencom na 3' kraju. ORF1 kodira za RNA-vezujući protein, a ORF2 za holoenzim s aktivnošću reverzne transkriptaze i endonukleaze.[7] Preuzeto iz Khazina et al. 2014.

2 ULOGA RETROTRANSPOZONA U EKSPRESIJI GENA

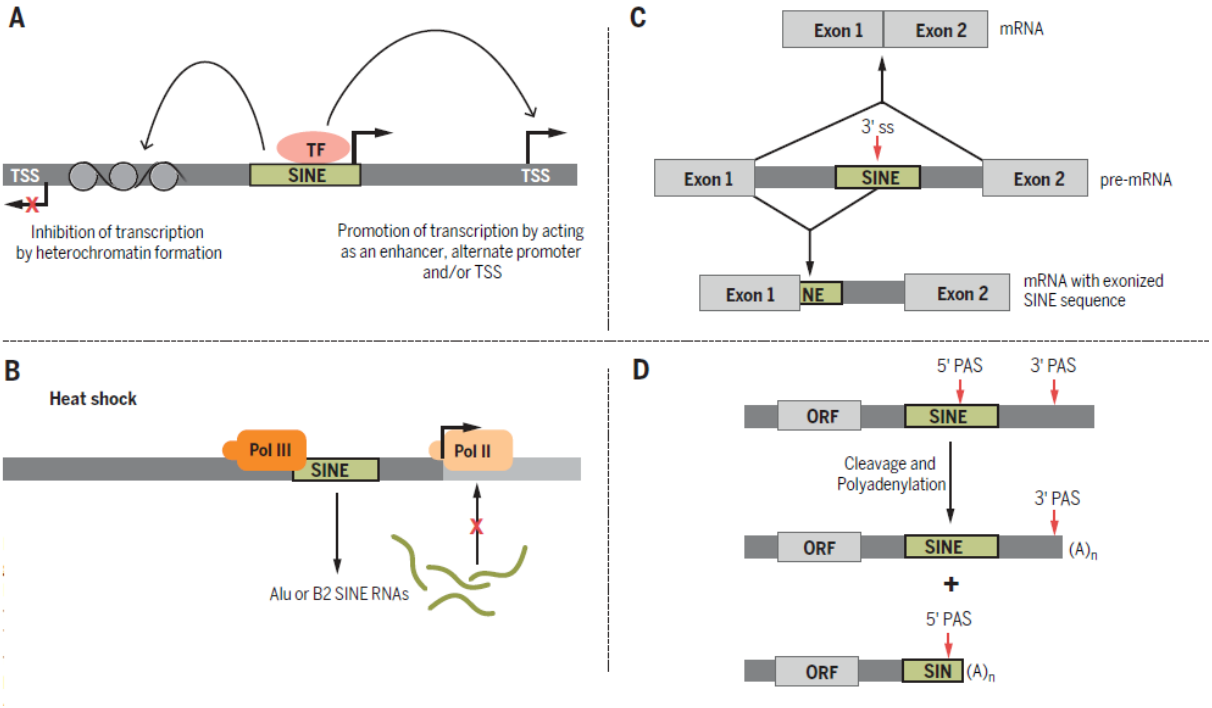
Široka rasprostranjenost elemenata LINE i SINE je omogućila da u genomu imamo mnogo regija koje zbog svoje sličnosti služe kao „vruća mjesta“ za homolognu rekombinaciju i tako su značajno oblikovala genome višestaničnih organizama.[8] Također imamo pojavu takozvanih „retrogena“ koji nastaju tako što proteini koji sudjeluju u transpoziciji prepoznaju mRNA zbog 5' kape i poli-A repa kao LINE transkript te je prepisuju u genom. Takvi „retrogeni“ su lišeni selektivnog pritiska i na taj način mogu akumulirati mutacije i steći neke nove funkcije.[9] Otkriveno je da je retrotranspozicija aktivna u nekim somatskim tkivima i tokom embrionalnog razvoja što vodi do mozaicizma gdje imamo genetički različite stanice unutar istog organizma.[10] Na taj način retrotranspozoni doprinose genetičkoj raznolikost između vrsta ali među jedinkama iste vrste. Iako je većina ovakvih insercija neutralna ili pak letalna za organizam, ovdje se bavimo slučajevima u kojima elementi LINE i SINE služe kao regulatori ekspresije gena.

2.1 Regulacija transkripcije i strukture kromatina

Elementi LINE i SINE bogati GC parovima djeluju kao „vruća mjesta“ za DNA metilaciju koja je jedan od mehanizama koji se koristi za utišavanje transkripcije. Takva metilirana područja mogu utišati ekspresiju susjednih gena. Na taj način elementi LINE i SINE mogu „zamagliti“ granicu između heterokromatina i eukromatina, tako što inhibiraju transkripciju gena koji bi se inače normalno prepisivao.[11]

Elementi SINE, naročito *Alu*, mogu djelovati kao transkripcijski pojačivači ako se nalaze neposredno uzvodno od funkcionalnih gena. To dokazuje činjenica da se vezna mjesta mnogih transkripcijskih faktora nalaze upravo u sekvencama elemenata SINE.[12] Utjecaj elemenata SINE na transkripciju može biti i posredstvom RNA za koju kodiraju. U normalnim uvjetima transkripcija elemenata SINE je utišana, međutim kao odgovor na vanjske stresore (npr. temperaturni šok) SINE PolIII promotori su aktivni i transkripcija je aktivna.

Kod ljudskih elemanata *Alu* i mišjih B2 takva transkripcija inhibira transkripciju većine gena na način da se RNA transkripti tih elemenata vežu za RNA polimerazu II (Slika 3A, 3B).[13]



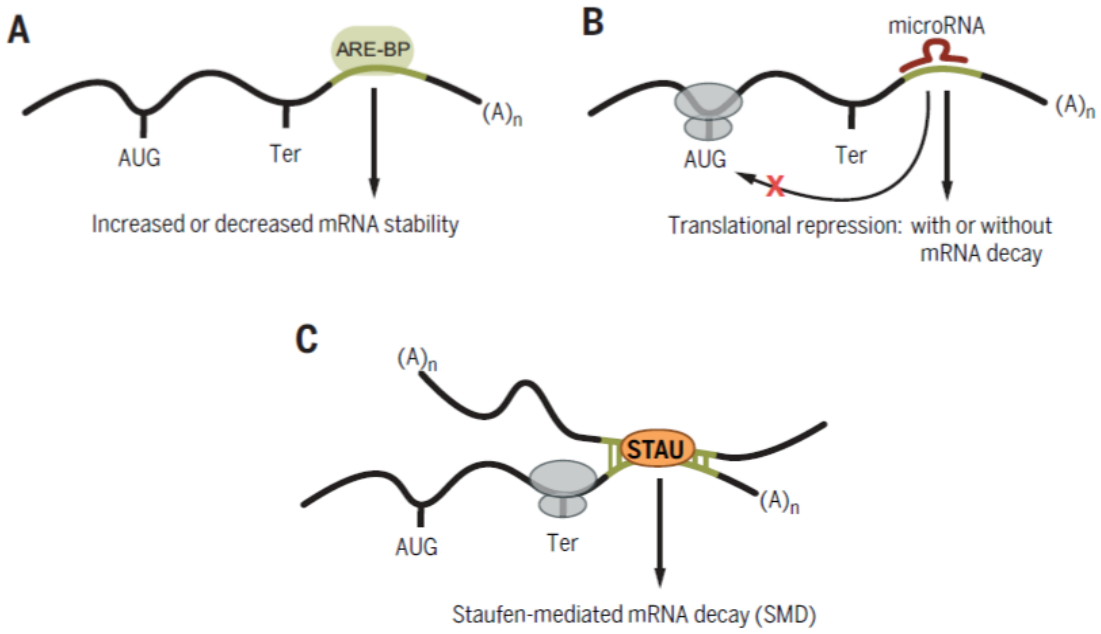
Slika 3. (A) Elementi SINE mogu djelovati kao promotori ili inhibitori transkripcije susjednih gena (TF-transkripcijski faktor, TTS-mjesto inicijacije transkripcije). (B) Kod temperaturnog šoka pojačana ekspresija elemenata *Alu* i B2 RNA inhibira RNA polII. (C) SINE elementi sadrže sekvence koje mogu služiti kao mjesta izrezivanja (ss, od eng. *splicing site*) i tako rezultirati u mRNA s intronskim sekvencama. (D) Elementi nogu sadržavati signal za poliadenilaciju (PAS).[14] Preuzeto iz Elbarbary et al. 2016.

2.2 Regulacija post-transkipcijskog procesiranja RNA

Većina elemenata *Alu* u ljudskom genomu se nalazi u intronskim regijama. U *antisense* orijentaciji sadrže 7 potencijalnih 5' mjesta izrezivanja i 12 potencijalnih 3' mjesta izrezivanja, a u *sense* orijentaciji tri 5' i jedno 3' potencijalno mjesto izrezivanja. Te sekvence uglavnom trebaju imati nekoliko mutacija da bi postale aktivna mjesta izrezivanja, u kojem slučaju dobivamo „krivo“ izrezanu mRNA koja će sadržavati i dio introna (Slika 3C).[15] Procjenjeno je da 5% alternativno izrezanih eksona kod ljudi potječe od elemenata *Alu*, od kojih je velika većina u neuronima. Mnoge protein-kodirajuće i nekodirajuće molekule RNA imaju poliadenilirane 3' krajeve. Poliadenilacija se događa prepoznavanjem signala (PAS), koji je najčešće AAUAAA ili vrlo slična sekvenca AUUAAA. Nove sekvence PAS nastaju spontanim mutacijama u adenozinom bogatim repovima elemenata SINE i LINE (Slika 3D).

Takve sekvence PAS nisu konzervirane među vrstama što upućuje na to da su retrotranspozoni doprinijeli u nastanku razlika u 3' krajevima transkripata.[16]

Kada su prepisani kao dio 3' netranslatirajuće regije (3'UTR) u mRNA, elementi SINE mogu djelovati cis ili trans i tako utjecati na stabilnost mRNA. Sekvenca poli-T u *antisense* orijentaciji u elementima *Alu* čini oko 40% svih AU-bogatih 3' netranslatirajućih regija koje reguliraju vrijeme poluraspada mRNA putem RNA-vezujućih proteina koji stabiliziraju ili destabiliziraju transkript (Slika 4A).[17] Elementi LINE i SINE mogu djelovati i kao promotori za sintezu miRNA ili kao vezna mjesta za miRNA u ciljnoj mRNA, i tada djeluju kao translacijski represori (Slika 4B). Zbog svoje sličnosti sekvence Alu, kada se nalaze u regiji 3' UTR na mRNA, mogu posredovati sparivanju dviju RNA molekula. Kada se na takvu dvolančanu RNA vežu dupleks-RNA-vezujući proteini (dsRNA-pb) STAU1 i/ili STAU2 dolazi do raspada mRNA (Slika 4C). Mehanizam kojim se određuje na koju će se dsRNA proteini STAU vezati i koja sekvenca određuje njihovo vezno mjesto još nije određen.[18]

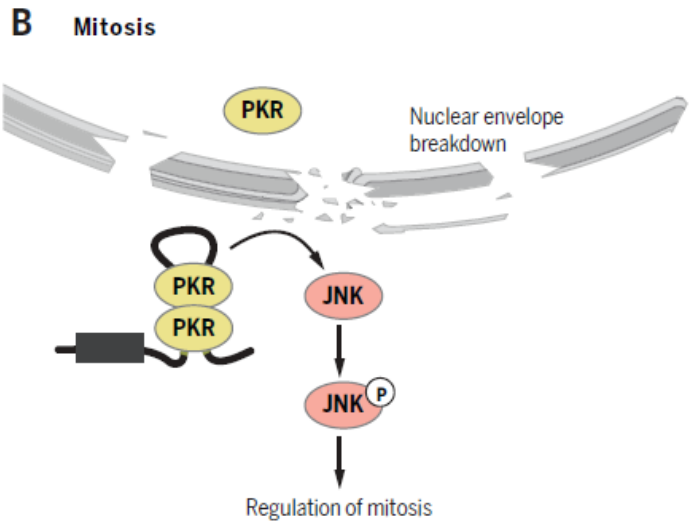


Slika 4. (A) RNA-vezujući proteini koji se vežu na AU-bogate sljedove (ARE-BP) mogu povećati ili smanjiti stabilnost mRNA. (B) *Alu* vezujuće mjesto za miRNA na mRNA može inhibirati translaciju i/ili potaknuti degradaciju mRNA. (C) Sparivanje dvije molekule mRNA s djelomično komplementarnim elementima SINE može stvoriti vezno mjesto za proteine STAU koji potiču raspad mRNA.[14] Preuzeto iz Elbarbary et al. 2016.

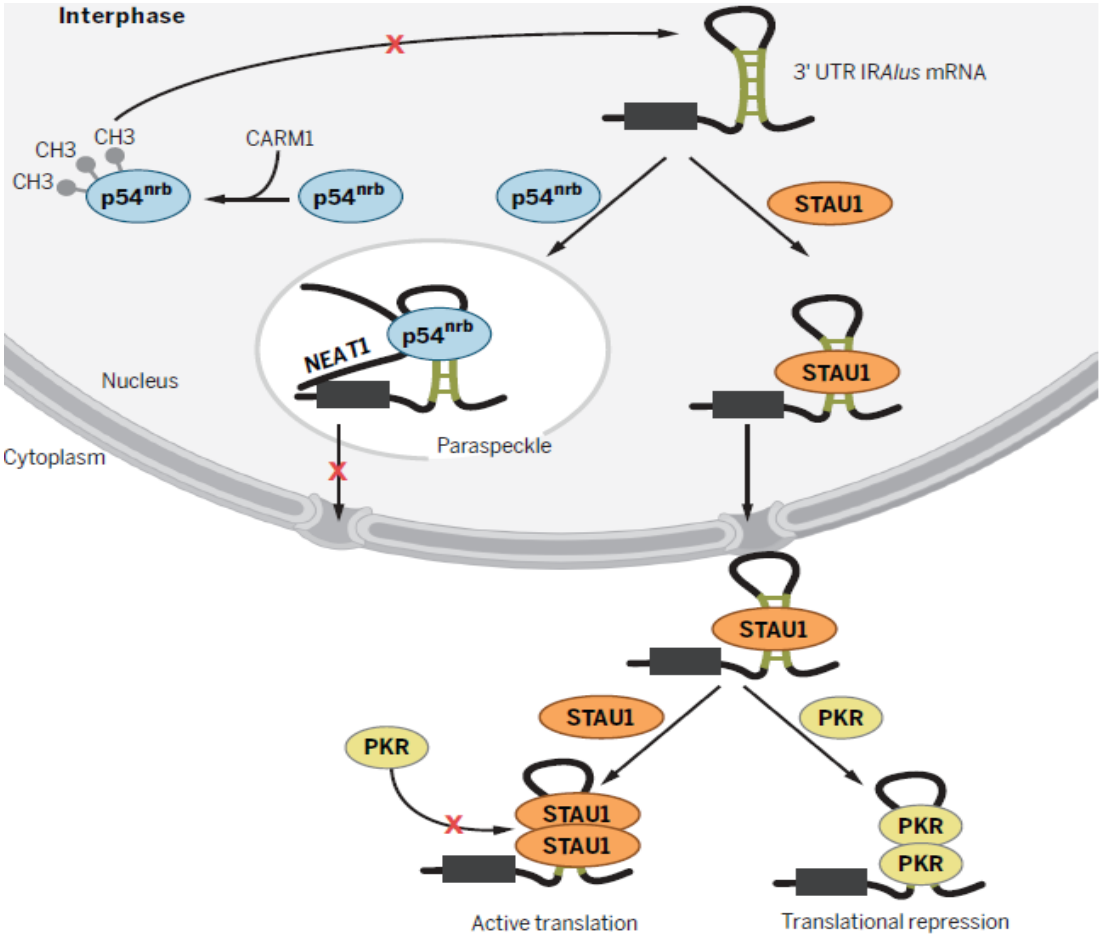
2.3 Lokalizacija mRNA i translacija

Nakon transkripcije, većina mRNA se transportira u citoplazmu gdje im slijedi translacija na ribosomima. Međutim, neke od mRNA koje ostaju u jezgri sadrže elemente *Alu* s inverznim repeticijama (IR*Alu*) na regiji 3' UTR. Takve molekule se nalaze u malim staničnim tjelešcima-parapjegama (eng. *paraspeckles*), koji sadrže dugu nekodirajuću RNA (lncRNA) *NEAT1* i brojne RNA-vezujuće proteine. Protein $p54^{nrb}$, koji je u sastavu parapjege, veže se na 3'UTR IR*Alu* i tako ih zadržava u jezgri. Ako se veže i protein STAU1 tada se mRNA transportira van jezgre. Još uvijek se ne zna koji sve mehanizni određuju koji će se protein vezati, ali je otkriveno da kod nekih mRNA protein STAU1 ima prednost te da metilacija proteina $p54^{nrb}$ smanjuje njegov afinitet za vezanje na 3'UTR IR*Alu* mRNA (Slika 6).[19]

U citoplazmi elementi 3'UTR IR*Alu* mogu utišati translaciju domaćinske mRNA. Jedna skupina takvih elemenata to čini vezanjem na dsRNA-ovisnu protein kinazu (PKR) koja se zatim aktivira autofosforilacijom. Aktivacija PKR rezultira fosforilacijom eukariotskog translacijskog inicijacijskog faktora 2α, koji kada je fosforiliran inhibira dobar dio translacije u stanici. Vezanje proteina STAU1 na 3'UTR IR*Alu* sprječava vezanje PKR i samim time utišavanje translacije. Za vrijeme interfaze aktivacija PKR se ne događa jer se elementi 3'UTR IR*Alu* nalaze u jezgri i fizički su odvojeni od PKR, no aktivacija se događa tokom mitoze kada je membrana jezgre degradirana (Slika 5). Aktivacija PKR je neophodna u mitozi jer aktivira c-Jun N-terminalnu kinazu (JNK) koja regulira mnoge mitotske faktore.[20]



Slika 5. Tokom mitoze kontakt 3'UTR IR*Alu* elemenata i PKR je omogućen te će se oni vezati; PKR se aktivira i fosforilira JNK koja regulira brojne mitotske faktore.[14] Preuzeto iz Elbarbary et al. 2016.



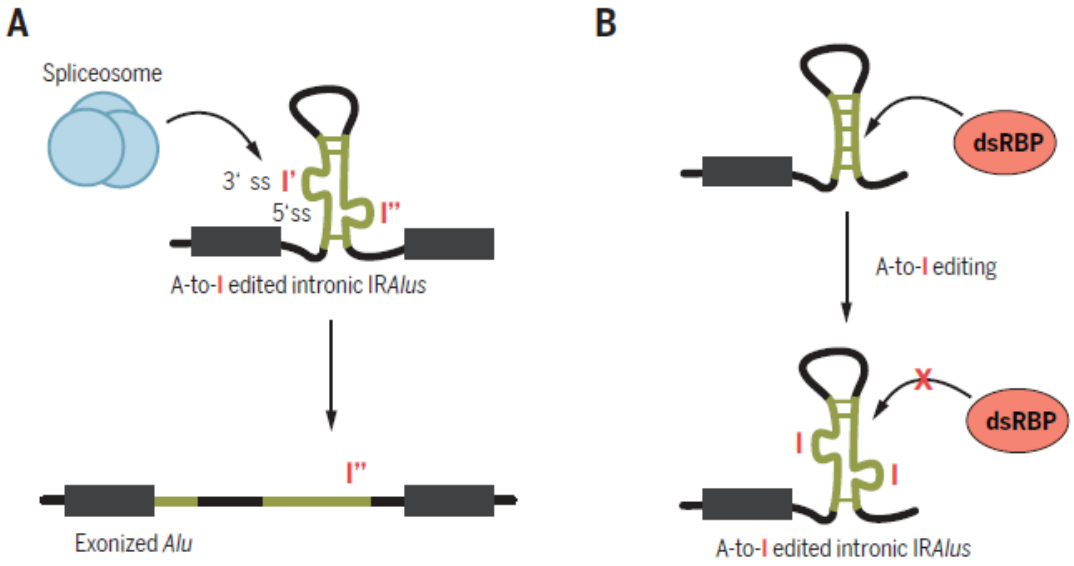
Slika 6. Tokom interfaze mnoge mRNA koje sadrže 3'UTR IR*Alu* elemente ostaju „zarobljene“ u jezgri tako što se na njih veže protein p54^{nrb}.To se može izbjeći ako ga preduhitri protein STAU1 ili metilacijom p54^{nrb} CARM1 metil-transferazom smanjujući time afinitet p54^{nrb} za vezanje 3'UTR IR*Alu* mRNA. Kada dospiju u citoplazmu elementi 3'UTR IR*Alu* mogu inhibirati translaciju tako što se vežu na PKR.[14] Preuzeto iz Elbarbary et al. 2016.

2.4 Utjecaj uređivanja A-do-I na funkciju elemenata SINE

Uređivanje A do I (eng. *adenosine-to-inosine editing*) je vrsta tkivno specifične posttranskripcijske dorade gdje dolazi do deaminacije adenozina na dvolančanoj RNA djelovanjem adenozin deaminaze specifične za dsRNA (ADAR). Elementi IR*Alu* su glavna vezna mjesta za protein ADAR. Više od 90% A do I uređivanja u humanom genomu se događa posredstvom elemenata *Alu*.[21]

Ovakvim posttranskripcijskim procesiranjem unutar elemenata IR*Alu* mogu nastati nova mjesta izrezivanja koja rezultiraju uvođenjen elementa *Alu* u eksonsku mRNA (Slika 7A). Procesiranje elemenata IR*Alu* koji se nalaze u netranslatirajućim regijama (UTR) nije mjesno

specifično i biološka važnost mu još uvijek nije poznata. Jedna od mogućih uloga elemenata 3'UTR IR*Alu* bi mogla biti da oni vezanjem proteina ADAR na sebe odvlače enzim od sekvenci ORF i na taj način sprječavaju deaminaciju koja bi rezultirala promijenjenim kodonom koji bi kodirao za neku drugu aminokiselinu jer je inozin prepoznat kao gvanozin od strane ribosoma prilikom translacije. Deaminacijom adenozina nastaje inozin koji se sparuje s citozinom i dolazi do krivog sparivanja što narušava strukturu dsRNA. Na taj način A do I uređivanje može promjeniti vrste proteina koje će se vezati na sekvence IR*Alu* i tako utjecati na metabolizam domaćinske RNA molekule (Slika 7B).[22]



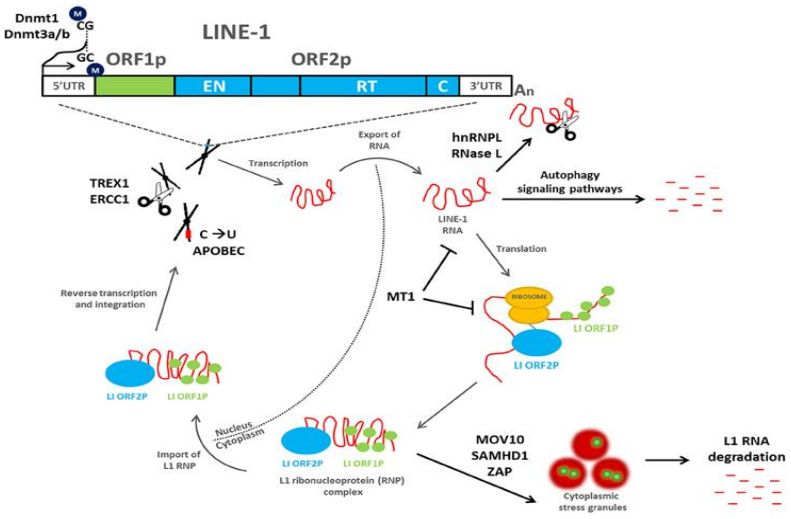
Slika 7. (A) Procesirane intronske IR*Alu* sekvence mogu stvoriti nova splice mjesta (ss). (B) Inozin nastao deaminacijom adenozina može destabilizirati strukturu dsRNA i smanjiti vezanje dsRNA-vezujućih proteina (dsRBP).[14] Preuzeto iz Elbarbary et al. 2016.

2.5 Mehanizmi obrane domaćina od retrotranspozicije

Retrotranspozicija je nužno mutagena i iz tog razloga potencijalno patogena. Elementi *Alu* su najaktivniji retrotranspozoni u ljudskim spolnim stanicama, s ratom insercije od 1:20

novorođenčadi. Insercije u spolnim stanicama su povezane s oko stotinjak genskih poremećaja, dok one u somatskim tkivima, iako nenasljedne imaju potencijal da izazovu bolest.[24] Mnogi karcinomi i neurološki poremećaji su upravo povezani s povećavajućom stopom retrotranspozicije tijekom života koja je posljedica demetilacije promotora LINE i elemenata SINE.[23]

Organizmi su razvili mnoge mehanizme da bi zaštitili svoje genome od negativnih ili čak letalnih posljedica insercije retrotranspozona. Utišavanje retrotranspozona metilacijom DNA je jedan od glavnih. Novija istraživaja upućuju na to da je metilacija histona bitniji faktor od metilacije DNA u supresiji transkripcije retrotranspozona SINE kod humanih i mišjih stanica.[24] Kod sisavaca postoji velik broj mehanizama koji prepoznaju sekvence retrotranspozonskih transkripata i takve RNA degradiraju. Degradaciju LINE i SINE RNA mogu inicirati male endogene interferirajuće RNA (endo-siRNA) ili PIWI-interreagirajuće RNA (piRNA).[25] Pronalazak LINE1 i *Alu* RNA u autofagosomima humanih stanica upućuje na autofagiju kao još jedan obrambeni mehanizam. Potvrda tomu je veća koncentracija retrotranspozonskih transkripata i viša rata insercije kod miševa koji nemaju gen za autofagiju, Atg/Beclin1.[26] U somatskim i spolnim stanicama retrotranspozicija je ograničena enzimima APOBEC3 obitelji (*apolipoprotein B mRNA-editing enzyme*).[27]



Slika 8. Mehanizmi obrane od retrotranspozicije uključuju autofagiju, degradaciju RNA i restrikciju enzimima obitelji APOBEC3.[28] Preuzeto iz J.R. Kemp and M.S. Longworth, 2015.

3. ZAKLJUČAK

U ovom radu prošli smo kroz niz načina i mehanizama na koji retrotranspozoni utječu na ekspresiju gena. Iako većina elemenata LINE i SINE imaju neutralne ili deletirajuće posljedica na genom organizma nepobitno je da mogu imati i ulogu regulatora ekspresije gena organizma s negativnim ili pozitivnim posljedicama. Sekvenciranjem je identificiran velik broj nekodirajućih RNA sa elementima SINE čija je biološka funkcija i dalje nepoznata. Možemo zaključiti da unatoč brojnim otkrićima na ovom polju i dalje ne znamo sve uloge retrotranspozona na ekspresiju gena.

Otkriće da je retrotranspozicija elemenata LINE i SINE aktivna u somatskim tkivima otvara novo područje istraživanja povezanosti retrotranspozona sa nenasljednim bolestima, s posebnim naglaskom na bolesti uzrokovane strarenjem. Budući da je to novije otkriće, daljnja istraživanja bi mogla dovesti do revolucionarnih spoznaja o mehanizmima nastanka nenasljednih bolesti i metodama njihovog sprječavanja.

4. LITERATURA

1. Chénais, Benoît. "Transposable Elements And Human Cancer: A Causal Relationship?". *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Reviews on Cancer* 1835.1 (2013)

2. Dombroski, B A et al. "An In Vivo Assay For The Reverse Transcriptase Of Human Retrotransposon L1 In Saccharomyces Cerevisiae.". *Molecular and Cellular Biology* 14.7 (1994)

3. Ostertag, Eric M., and Haig H. Kazazian Jr. "Biology Of Mammalian L1 Retrotransposons". *Annual Review of Genetics* 35.1 (2001)

4. Dewannieux, Marie, Cécile Esnault, and Thierry Heidmann. "LINE-Mediated Retrotransposition Of Marked Alu Sequences". *Nature Genetics* 35.1 (2003)

5. Cordaux, Richard, and Mark A. Batzer. "The Impact Of Retrotransposons On Human Genome Evolution". *Nature Reviews Genetics* 10.10 (2009)

6. Medstrand, P. "Retroelement Distributions In The Human Genome: Variations Associated With Age And Proximity To Genes". *Genome Research* 12.10 (2002)

7. Khazina, Elena et al. "Trimeric Structure And Flexibility Of The L1ORF1 Protein In Human L1 Retrotransposition". *Nature Structural & Molecular Biology* 18.9 (2011)

8. Feschotte, Cédric. "Transposable Elements And The Evolution Of Regulatory Networks". *Nature Reviews Genetics* 9.5 (2008)

9. Kaessmann, Henrik, Nicolas Vinckenbosch, and Manyuan Long. "RNA-Based Gene Duplication: Mechanistic And Evolutionary Insights". *Nature Reviews Genetics* 10.1 (2009)

10.Muotri, Alysson R. et al. "Somatic Mosaicism In Neuronal Precursor Cells Mediated By L1 Retrotransposition". *Nature* 435.7044 (2005).

11. Estecio, M. R. H. et al. "SINE Retrotransposons Cause Epigenetic Reprogramming Of Adjacent Gene Promoters". *Molecular Cancer Research* 10.10 (2012)

12. Faulkner, Geoffrey J et al. "The Regulated Retrotransposon Transcriptome Of Mammalian Cells". *Nature Genetics* 41.5 (2009)

13. Allen, Tiffany A et al. "The SINE-Encoded Mouse B2 RNA Represses Mrna Transcription In Response To Heat Shock". Nature Structural & Molecular Biology 11.9 (2004)

14. Elbarbary, R. A., B. A. Lucas, and L. E. Maquat. "Retrotransposons As Regulators Of Gene Expression". *Science* 351.6274 (2016)

15. Lev-Maor, G. "The Birth Of An Alternatively Spliced Exon: 3' Splice-Site Selection In Alu Exons". *Science* 300.5623 (2003).

16. Beaudoing, E. "Patterns Of Variant Polyadenylation Signal Usage In Human Genes". *Genome Research* 10.7 (2000).

17. 17. H. J. An, D. Lee, K. H. Lee and J. Bhak. "The association of Alu repeats with the generation of potential AU-rich elements (ARE) at 3′ untranslated regions". *BMC Genomics* 97 (2004).

18. Park, E., M. L. Gleghorn, and L. E. Maquat. "Staufen2 Functions In Staufen1-Mediated Mrna Decay By Binding To Itself And Its Paralog And Promoting UPF1 Helicase But Not Atpase Activity". *Proceedings of the National Academy of Sciences* 110.2 (2012)

19. Elbarbary, Reyad A., and Lynne E. Maquat. "Carming Down The Sines Of Anarchy: Two Paths To Freedom From Paraspeckle Detention: Figure 1.". *Genes & Development* 29.7 (2015)

20. Kim, Y. et al. "PKR Is Activated By Cellular DsRNAs During Mitosis And Acts As A Mitotic Regulator". *Genes & Development* 28.12 (2014)

21. Athanasiadis, Alekos, Alexander Rich, and Stefan Maas. "Widespread A-To-I RNA Editing Of Alu-Containing Mrnas In The Human Transcriptome". *PLoS Biology* 2.12 (2004)

22. Chen, Ling-Ling, and Gordon G. Carmichael. "Gene Regulation By SINES And Inosines: Biological Consequences Of A-To-I Editing Of Alu Element Inverted Repeats". *Cell Cycle* 7.21 (2008)

23. Hancks, Dustin C, and Haig H Kazazian. "Active Human Retrotransposons: Variation And Disease". *Current Opinion in Genetics & Development* 22.3 (2012)

24. Varshney, Dhaval et al. "SINE Transcription By RNA Polymerase III Is Suppressed By Histone Methylation But Not By DNA Methylation". *Nature Communications* 6 (2015)

25. Ishizu, H., H. Siomi, and M. C. Siomi. "Biology Of PIWI-Interacting Rnas: New Insights Into Biogenesis And Function Inside And Outside Of Germlines". *Genes & Development* 26.21 (2012)

26. Guo, Huishan et al. "Autophagy Supports Genomic Stability By Degrading Retrotransposon RNA". *Nature Communications* 5 (2014)

27. Arias, Juan F. et al. "Retroelements Versus APOBEC3 Family Members: No Great Escape From The Magnificent Seven". *Frontiers in Microbiology* 3 (2012)

28. Kemp, Jacqueline R., and Michelle S. Longworth. "Crossing The LINE Toward Genomic Instability: LINE-1 Retrotransposition In Cancer". *Frontiers in Chemistry* 3 (2015)

5. SAŽETAK

Retrotranspozoni su pokretni genetički elementi koji se kreću po genomu putem RNA intermedijera. Tri su glavne grupe retrotranspozona; LTR (*long terminal repeat*) retrotranspozoni, elementi LINE (*long interspersed elements*) i elementi SINE (*short interspersed elements*). U ovom radu fokusirali smo se na elemente LINE i SINE koji vrše transpoziciju putem „copy and paste“ mehanizma. Prvi „copy“ korak uključuje transkripciju s RNA polimerazom II nakon čega slijedi translacija. U „paste“ koraku enzim endonukleaza radi ureze u ciljnoj DNA te reverzna transkriptaza prepisuje RNA intermedijer u DNA. Kažemo da su elementi LINE autonomni zato što kodiraju za sve proteine potrebne za svoju retrotranspoziciju, dok su elementi SINE neautonomni i enzime „posuđuju“ od LINE.

Iako većina transpozicija uzrokuje neutralne ili deletirajuće mutacije, ovi retrotranspozoni imaju mnogo različitih utjecaja na ekspresiju gena. Dosad provedena istraživanja otkrila su velik broj uloga koje ovi elementi imaju u stanicama domaćina; djeluju kao utišivači ili pojačivači transkripcije, mogu stvoriti nova mjesta izrezivanja koja rezultiraju s alternativno izrezanim eksonima s intronskim sekvencama. Također je nađeno da u stresnim uvjetima mogu inhibirati velik dio stanične translacije vežući se dsRNA-ovisnu protein kinazu. Uređivanjem A do I zbog deaminacije adenina do inozina dolazi do promjene kodona a time i ugradnje alternativne aminokiseline prilikom translacije na ribosomu. Promjena baza također uzrokuje kriva sparivanja u dvolančanoj RNA i narušava joj strukturu i samim time tip proteina koji će se na nju vezati.

S obzirom da je insercija retrotranspozona nužno mutagena i može dovesti do raznih poremećaja, organizmi su razvili brojne mehanizme da bi zaštitili svoje genome. Utišavanje transkripcije metilacijom DNA i histona, razne molekule RNA koje se specifično vežu na LINE i SINE transkripte i degradiraju ih, specifične grupe proteina koje vrše restrikciju retrotranspozicije i autofagija neki su od načina obrane od insercije retrotraspozonske DNA.

Zadnjih godina se otkrilo mnogo o tome kako sve retrotranspozoni utječu na ekspresiju gena i o njihovoj povezanosti s čak oko stotinjak genski nasljednih bolesti. Otkriće da je retrotranspozicija aktivna u somatskim stanicama tokom cijelog života daje naslutiti da bi se daljnjim istraživanjima mogli otkriti dosad nepotpuno razjašnjeni mehanizmi nastanka nenasljednih bolesti i bolesti povezanih sa starenjem.

6. SUMMARY

Retrotransposons are transposable elements that transpose via an RNA-intermediate. There are three major retrotransposon orders; long terminal repeat (LTR) retrotransposons, long interspersed elements (LINEs) and short interspersed elements (SINEs). Here we focus on LINEs and SINEs. They transpose via a copy-and-paste mechanism. The copy step involves gene transcription by RNA polymerase II followed by translation. In the paste step enzyme endonuclease nicks the target DNA and reverse-transcriptase transcribes the RNA intermediate into the DNA. LINEs are autonomous because they encode for all the proteins necessary for retrotransposition whereas SINEs don't, so they use enzymes from LINEs.

These retrotransposons have many influences on gene expression besides causing neutral mutations or deletions in the genome. The so far conducted studies demonstrate that LINEs and SINEs perform many different roles within cells. They can regulate gene expression by acting as transcription enhancers or silencers. They can create new splicing sites resulting in alternatively spliced exons. It is also found that in stressful conditions they can inhibit a majority of the cellular translation by binding and thus activating dsRNA-dependent protein kinase. Adenosine-to-Inosine posttranscriptional editing, where adenosine is deaminated to inosine can lead to amino-acid recoding and can also disrupt the structure of dsRNA by creating mismatches.

Considering that retrotransposition is necessarily mutagenic and has the potential to cause disease, organisms have developed multiple mechanisms to protect their genomes; transcriptional silencing by DNA and histone methylation, sequence specific RNA degradation to eliminate LINE and SINE transcripts, specific groups of proteins that restrict retrotransposition and degradation by autophagy.

Although we now know a lot about how retrotranposons impact gene expression and have identified around 100 genetic diseases that are linked to retrotransposition. While retrotransposition in germline cells is hereditary, there is still a lot to be discovered about how and why retrotansposition occurs in somatic cells and can cause disease. These discoveries could lead to better understanding of molecular pathogenesis of non-hereditary and age-related illneses.