

# Uloga aktivnog retrotranspozona LINE-1 u stabilnosti genoma i nastanku bolesti kod ljudi

---

Paladin, Marta

Undergraduate thesis / Završni rad

2023

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://um.nsk.hr/um:nbn:hr:217:182364>

Rights / Prava: [In copyright](#)/Zaštićeno autorskim pravom.

Download date / Datum preuzimanja: **2024-07-24**



Repository / Repozitorij:

[Repository of the Faculty of Science - University of Zagreb](#)



Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Marta Paladin

**Uloga aktivnog retrotranspozona LINE-1 u  
stabilnosti genoma i nastanku bolesti kod  
ljudi**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Marta Paladin

**The role of retrotransposon LINE-1  
activation in genome stability and human  
disease**

Bachelor thesis

Zagreb, 2023.

Ovaj završni rad je izrađen u sklopu studijskog programa Molekularna biologija na Zavodu za molekularnu biologiju Biološkog odsjeka Prirodoslovno-matematičkog fakulteta u Zagrebu, pod mentorstvom prof. dr. sc. Ivane Ivančić Baće.

Sveučilište u Zagrebu  
Prirodoslovno-matematički fakultet  
Biološki odsjek

Završni rad

## Uloga aktivnog retrotranspozona LINE-1 u stabilnosti genoma i nastanku bolesti kod ljudi

Marta Paladin

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Retrotranspozon LINE-1 jedini je aktivan pokretni genetički element kod čovjeka. Pokretanje elementa LINE-1 može dovesti do genomske nestabilnosti i nastanka bolesti. U stanicama postoje brojni mehanizmi kojima se njegovo pokretanje nastoji spriječiti, pri čemu je najvažnije epigenetičko utišavanje transkripcije elementa LINE-1. Njegova ekspresija česta je u stanicama tumora i može dovesti do progresije bolesti. Mutacije koje uzrokuje pokretanje elementa LINE-1 u tumorskim stanicama su insercije, delecije i kromosomski rearanžmani. Također, ekspresija LINE-1 može poremetiti regulaciju ekspresije drugih gena. Postoji zanimljiva poveznica između ekspresije pokretnih genetičkih elemenata i nastanka autoimunih bolesti. Stanični senzori nukleinskih kiselina mogu prepoznati element LINE-1 na isti način kao što prepoznaju virusne nukleinske kiseline i pokrenuti imunosni odgovor.

**Ključne riječi:** pokretni genetički elementi, genomska nestabilnost, karcinogeneza, autoimunost

(24 stranica, 13 slika, 0 tablica, 52 literaturnih navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof. dr. sc. Ivana Ivančić Baće

## BASIC DOCUMENTATION CARD

---

University of Zagreb  
Faculty of Science  
Department of Biology

Bachelor thesis

# The role of retrotransposon LINE-1 activation in genome stability and human disease

Marta Paladin

Rooseveltova trg 6, 10000 Zagreb, Croatia

The LINE-1 retrotransposon is the only active mobile genetic element in humans. Activation of the LINE-1 element can lead to genomic instability and the development of diseases. Cells employ various mechanisms to prevent its activation, with the most important being epigenetic regulation of transcription. The expression of the LINE-1 element is common in tumor cells and can contribute to progression of disease. Mutations caused by the activation of the LINE-1 element in tumor cells include insertions, deletions, and chromosomal rearrangements. Additionally, LINE-1 expression can disrupt the regulation of other genes. Moreover, there is a link between expression of transposable elements and the development of autoimmune diseases. Cellular sensors of nucleic acids can recognize the LINE-1 element in the same way they recognize viral nucleic acids, triggering an immune response.

**Keywords:** transposable elements, genome instability, oncogenesis, autoimmunity  
(24 pages, 13 figures, 0 tables, 52 references, original in: Croatian)  
Thesis is deposited in Central Biological Library.

**Mentor:** prof. Ivana Ivančić Baće

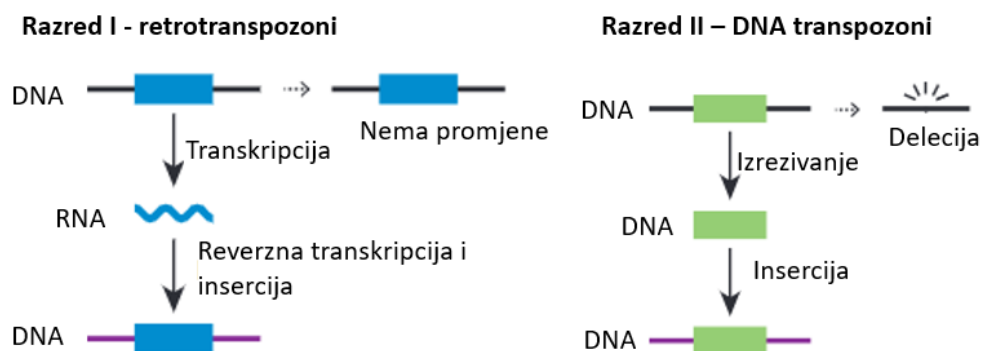
# SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
1.1 Pokretni genetički elementi .....	1
1.2 Aktivni retrotranspozoni kod ljudi .....	1
1.3 Značaj pokretnih genetičkih elemenata .....	2
1.4 Retrotranspozicija i ljudske bolesti.....	2
2. Mehanizam retrotranspozicije elementa LINE-1 .....	4
2.1 Struktura retrotranspozona LINE-1 .....	4
2.2 Integracija elementa LINE-1 u genom .....	5
3. Regulacija retrotranspozicije elemenata LINE-1 .....	7
3.1 Transkripcijska regulacija.....	7
3.2 Posttranskripcijska regulacija .....	8
4. Uloga elementa LINE-1 u nastanku tumora .....	10
4.1 Gubitak regulacije LINE-1 kod tumora.....	10
4.1.1 Inaktivacija ili aktivacija gena uslijed insercije elementa LINE-1.....	10
4.1.2 Nastajanje procesiranih pseudogena .....	11
4.1.3 Kromosomski rearanžmani .....	12
4.1.4 Utjecaj elementa LINE-1 na ekspresiju drugih gena.....	13
5. Povezanost elemenata LINE-1 i autoimunosti.....	15
5.1 Mehanizmi pokretanja imunosnog odgovora .....	15
5.1.1 Imunosni odgovor na LINE-1 cDNA.....	16
5.1.2 Imunosni odgovor na kompleks LINE-1 RNP.....	16
6. Zaključak.....	18
7. Literatura.....	19
8. Životopis .....	24

# 1. UVOD

## 1.1 Pokretni genetički elementi

Pokretni genetički elementi mogu mijenjati svoj položaj unutar genoma procesom koji se naziva transpozicija. S obzirom na mehanizam transpozicije, oni se dijele u dvije velike skupine, što prikazuje slika 1.



Slika 1. Usporedba dvije glavne skupine pokretnih genetičkih elemenata. Prilagođeno prema Luqman-Fatah i Miyoshi (2022).

Elementi koji pripadaju razredu I nazivaju se retrotranspozonima. Oni imaju tzv. *copy-and-paste* mehanizam transpozicije. Naime, retrotranspozoni stvaraju RNA intermedijer sa kojeg se reverznom transkripcijom prepisuje komplementarna molekula cDNA. Dakle, originalni retrotranspozon ostaje na početnom mjestu, a kopija (cDNA) se ugrađuje u drugo mjesto u genomu. Retrotranspozoni čine čak oko 40% ljudskog genoma; i dalje imaju mogućnost aktivnog pokretanja (Kazazian i Moran 2017). Retrotranspozoni se dijele u niže podrazrede, o čemu će se raspravljati kasnije u tekstu.

Elementi razreda II nazivaju se DNA transpozoni. Glavni mehanizam njihove transpozicije je tzv. *cut-and-paste*. Oni se izrezuju iz jednog mjesta u genomu i prebacuju u nego drugo mjesto. Ljudski DNA transpozoni više nisu aktivni, a čine oko 3% ljudskog genoma (Callinan i Batzer 2006).

## 1.2 Aktivni retrotranspozoni kod ljudi

Retrotranspozoni se mogu podijeliti u dva podrazreda, ovisno o tome imaju li LTR-ove (engl. *long terminal repeats*) ili ne. Retrotranspozoni sa LTR-ovima se prepisuju u molekulu RNA koja je jako slična retrovirusnoj RNA zbog čega se nazivaju i endogenim retrovirusima. Oni su izgubili mogućnost pokretanja u ljudskom genomu. Sadrže gene za enzime reverznu transkriptazu i integrazu, ali nemaju gen *env* za ovojnica, tako da ne mogu inficirati druge stanice. Danas se u genomu uglavnom pronalaze samostalni LTR-ovi bez unutrašnjih gena (Makałowski i sur. 2019). Retrotranspozoni koji su i dalje aktivni kod ljudi pripadaju skupinama LINE i SINE i nemaju LTR-ove.



Skupina LINE (engl. *long interspersed elements*) je autonomna skupina retrotranspozona. Oni se samostalno pokreću jer sadrže sve gene koji su im za to potrebni. Element LINE-1 jedini je aktivan član te skupine kod čovjeka. Danas u ljudskom genomu ima oko 850 000 kopija elementa LINE-1, ali većina njih je na neki način inaktivirana (Makałowski i sur. 2019). Smatra se da trenutno oko 80-100 elemenata LINE-1 ima mogućnost aktivne transpozicije kod ljudi. Takvi elementi se nazivaju *hot* LINE-1 (Hancks i Kazazian 2012).

S druge strane, elementi iz skupine SINE (engl. *short interspersed elements*) ne mogu se samostalno pokretati već ih element LINE-1 pokreće *in trans*. Kod ljudi su Alu i SVA najznačajniji elementi SINE. Retrotranspozon Alu je najzastupljeniji pokretni genetički element u ljudskom genomu sa preko milijun kopija (Wang i sur. 2005).

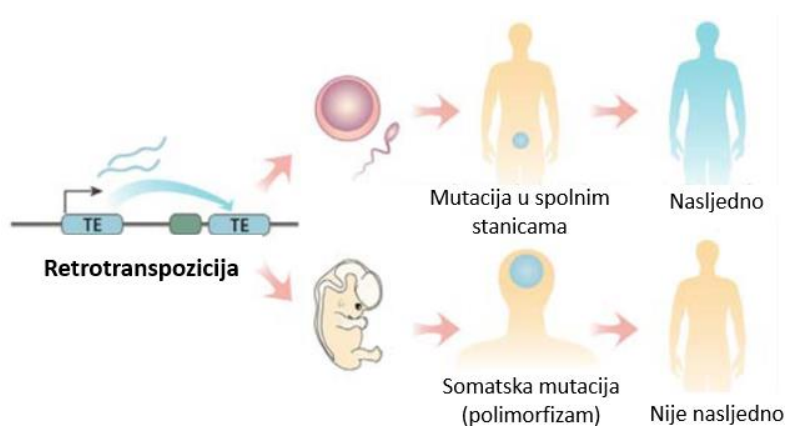
### 1.3 Značaj pokretnih genetičkih elemenata

Funkcija pokretnih genetičkih elemenata u genomu i danas je važan predmet rasprave. Oni se mogu promatrati kao „sebična DNA“ koja može povećati broj vlastitih kopija u genomu (Kidwell i Lisch 2001). Nekontrolirano povećanje kopija smanjuje stabilnost staničnog genoma. Insercije pokretnih genetičkih elemenata u kodirajuće regije gena uzrokuju gubitak njihove funkcije, a insercije izvan kodirajućih regija mogu dovesti do pogrešne regulacije gena. Takve mutacije su opasne jer mogu uzrokovati razne bolesti (Hancks i Kazazian 2012). Za zaštitu od neželjenih posljedica transpozicije razvili su se mehanizmi koji ju ograničavaju i reguliraju. Najvažnija je epigenetička regulacija transpozonskih sekvenci metilacijom DNA i histona te regulacija interferencijom RNA (Hancks i Kazazian 2016).

Ipak, smatra se da su pokretni genetički elementi imali važnu ulogu u evoluciji jer njihova insercija nekada donese novu funkciju. To se obično odnosi na nove mehanizme regulacije gena. Osim toga, tijekom evolucije došlo je do prenamjene nekih transpozonskih enzima i oni sada sudjeluju u drugim staničnim procesima. Najpoznatiji primjer je evolucija rekombinacije V(D)J kod kralješnjaka – enzimi RAG1 i RAG2 potječu upravo od transpozonskih enzima (Kidwell i Lisch 2001).

### 1.4 Retrotranspozicija i ljudske bolesti

Bolesti povezane s insercijama retrotranspozona mogu biti nasljedne ili somatske (ne-nasljedne), ovisno o tome kada je došlo do retrotranspozicije. Mutacije koje se dogode u spolnim (pra)stanicama ili zametku bit će nasljedne za buduće generacije. S druge strane, ako do mutacija dođe u somatskim stanicama u kasnijim stadijima razvoja, one su lokalizirane i ne nasljeđuju se (Slika 2). U ovom završnom radu napravljen je osvrt na bolesti koje se mogu javiti ako retrotranspozon LINE-1 izbjegne mehanizme kontrole i postane aktivan u somatskim stanicama. Element LINE-1 je jedini aktivni autonomni retrotranspozon tako da je zanimljivo promotriti negativne posljedice njegove aktivnosti.



Slika 2. Razlika između nasljednih i somatskih (ne-nasljednih) mutacija. Prema Ravel-Godreuil i sur. (2021).

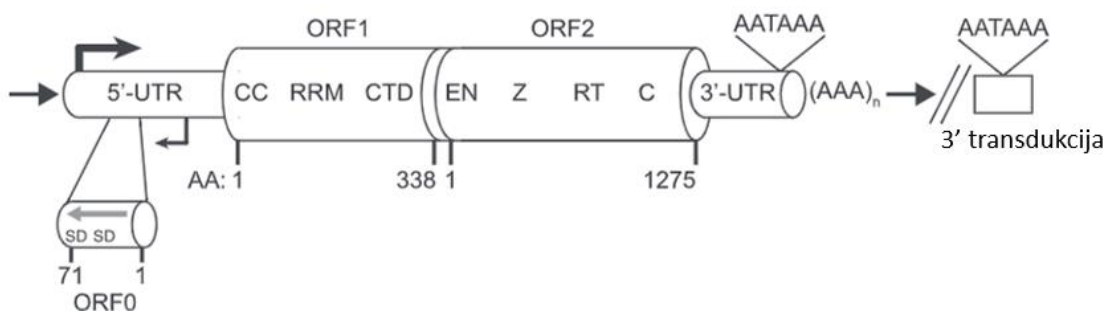
Nasljedne mutacije mogu nastati ako se element LINE-1 aktivira u pluripotentnim stanicama embrija. U njima dolazi do staničnog reprogramiranja (općeg gubitka epigenetičkih modifikacija) i promotori elemenata LINE-1 postaju transkripcijski aktivni što može dovesti do njihovog pokretanja (Gerdes i sur. 2016). Prva nasljedna bolest kod koje je pronađena insercija elementa LINE-1 je hemofilija A – Haig H. Kazazian i suradnici su ju opisali 1988. godine. Insercija se dogodila u egzonu gena *F8* na X-kromosomu koji kodira za koagulacijski faktor VIII. U obitelji ovog pacijenta nikada nije bila zabilježena hemofilija, što ukazuje da se dogodila *de novo* mutacija (Kazazian i Moran 2017). Do 2016. godine, insercije elemenata LINE-1 su opisane kod 130 pacijenata sa različitim nasljednim bolestima i poremećajima: neke od njih su Duchenneova mišićna distrofija,  $\beta$ -talasemija, hemofilija (zbog mutacije faktora IX). Detaljan pregled napravljen je u radu Hancksa i Kazaziana iz 2016.

Element LINE-1 obično nije aktivan u somatskim stanicama zbog različitih mehanizama represije, no njegova ekspresija zabilježena je u stanicama tumora (Hancks i Kazazian 2016). Također, poznato je da retrotranspozoni mogu pokrenuti autonomni imunski odgovor i na taj način sudjelovati u nastanku autoimunih bolesti. Moguća je uključenost elementa LINE-1 u proces neuroinflamacije i nastanak neurodegenerativnih bolesti (Saleh i sur. 2019).

## 2. MEHANIZAM RETROTRANSPOZICIJE ELEMENTA LINE-1

### 2.1 Struktura retrotranspozona LINE-1

Element LINE-1 je dug 6 kb i njegova struktura je prikazana na slici 3. Transkripcija elementa LINE-1 kreće sa promotora u 5' netranslatirajućoj regiji (5'-UTR, engl. *5' untranslated region*). Transkript se sastoji od dva otvorena okvira čitanja (engl. *open reading frame*): ORF1 i ORF2. Oni se ne preklapaju, a razdvaja ih kratka razmaknica od 63 pb (Hancks i Kazazian 2016). Uz to, 5'-UTR ima antisense promotor sa dodatnim otvorenim okvirom čitanja ORF0 čiji peptid ima oko 70 aminokiselina. Transkript antisense promotora ima mjesta prekrajanja koja se mogu povezati sa egzonima nizvodnih gena zbog čega nastaju fuzijski transkripti (Hancks i Kazazian 2016). Takvi fuzijski transkripti vjerojatno imaju važnu ulogu u regulaciji transpozicije elemenata LINE-1 mehanizmom interferencije RNA (Beck i sur. 2011).



Slika 3. Struktura retrotranspozona LINE-1 sa označenim dijelovima. Prilagođeno prema Hancks i Kazazian (2016).

ORF1 kodira za protein ORF1p molekulske mase oko 40 kDa. To je RNA-vezujući protein i važan je u integraciji elementa LINE-1 u novo mjesto u genomu. On ima sljedeće domene: CC (engl. *coiled-coil* ili zavojita zavojnica), RRM (engl. *RNA recognition motif*) i CTD (bazična C-terminalna domena) (Beck i sur. 2011). Proteini ORF1p formiraju trimere i domena CC je važna za njihovu međusobnu interakciju. Domene RRM i CTD omogućuju vezanje proteina za transkripte LINE-1 (Hancks i Kazazian 2012).

ORF2 kodira za protein ORF2p čija je masa oko 150 kDa. On ima endonukleaznu aktivnost (domena EN) i djeluje kao reverzna transkriptaza (domena RT). Funkcije Z- i C-domena nisu do kraja objašnjene (Hancks i Kazazian 2012). Z-domena je dobila naziv prema konzerviranom „Z“-segmentu koji stvara oktapeptid. Ona je važna za aktivnost reverzne transkriptaze u stanicama kvasca (Clements i Singer 1998). Mutacije u C-domeni (engl. *cysteine-rich*) smanjuju frekvenciju transpozicije elementa LINE-1 u staničnoj liniji HeLa (Moran i sur. 1996).

Transkripti elementa LINE-1 su bicistronski, što je inače rijetka pojava u eukariotskim stanicama. Translacija se zbog toga mora inicirati 2 puta na istoj molekuli mRNA. Nakon translacije proteina ORF1, podjedinica ribosoma 40S skenira razmaknicu dok ne pronade sekvencu za pozicioniranje ribosoma na

start kodon u 5' ORF2. Prilikom visoke ekspresije elementa LINE-1 u stanici, protein ORF2p je zastupljen u puno manjoj količini od proteina ORF1p. Vjerojatno se protein ORF2p razgrađuje vrlo brzo nakon translacije (Babushok i Kazazian 2007).

Na posljetku, transkript elementa LINE-1 ima poli-A signal u regiji 3'-UTR, ali transkripcija se često nastavlja i nakon tog signala. Na taj način nastaju kimerni transkripti koji sadrže sekvencu elementa LINE-1 i sekvencu nizvodnog gena. Kada se takav kimerni transkript umetne u novo mjesto u genomu, kažemo da se dogodila 3' transdukcija. To je važna pojava jer tako mogu nastati novi promotori, mjesta splicinga ili preuranjeni poliadenilacijski signali (Hancks i Kazazian 2016). Također, 3' transdukcije su jedan od mehanizama premještanja egzona (engl. *exon shuffling*) (Richardson i sur. 2015). Tubio i sur. (2014) proveli su veliku bioinformatičku analizu sekvenciranih genoma tumora od ukupno 244 pacijenta. Utvrdili su da 53% pacijenata ima barem 1 somatsku inserciju elementa LINE-1, dok su 3' transdukcije prisutne u 24% slučajeva.

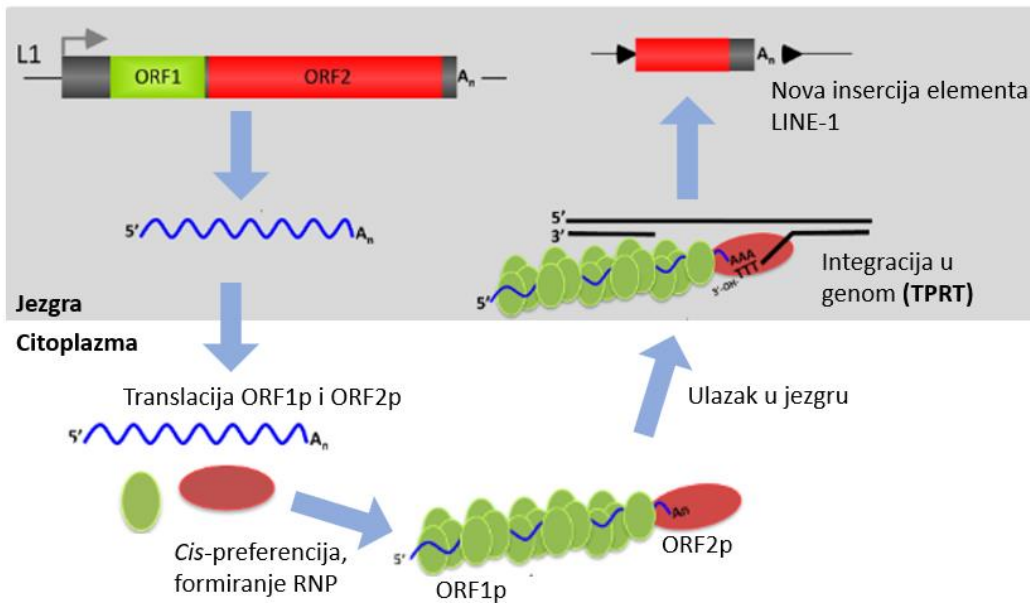
Pokretanje trenutno aktivnih (*hot*) elemenata LINE-1 često prate 3' transdukcije. To se može iskoristiti za njihovo istraživanje u genomima tumora. Prvo se utvrđuju sekvence koje se često nalaze nizvodno od elemenata LINE-1 na raznim mjestima u genomu (one su tamo umetnute 3' transdukcijom). Onda se pronalazi gen kojem pripadaju te sekvence i određuje se njegova lokacija u genomu. Na taj način se otkriva i lokacija izvornog *hot* LINE-1 (Luqman-Fatah i Miyoshi 2022).

## 2.2 Integracija elementa LINE-1 u genom

Nakon završetka translacije u citoplazmi, proteini ORF1p i ORF2p se povezuju sa molekulom mRNA elementa LINE-1. Na taj način nastaju ribonukleoproteinske čestice (RNP, engl. *ribonucleoprotein particles*). Proteini ORF1p i ORF2p se povezuju visokim afinitetom s istom molekulom sa koje se transliraju: to se naziva *cis*-preferencija. (Doucet i sur. 2010). Ciklus retrotranspozicije je prikazan na slici 4.

U sljedećem koraku, transkript LINE-1 u obliku RNP ulazi u jezgru, premda mehanizam ulaska nije do kraja objašnjen. Raspad jezgrine ovojnice vjerojatno nije nužan jer se retrotranspozicija događa i kod stanica koje se ne dijele, npr. u neuronima ili stanicama zaustavljenim u G1 fazi ciklusa. Najveća stopa retrotranspozicije zabilježena je u S fazi staničnog ciklusa (Luqman-Fatah i Miyoshi 2022). Integracija cDNA u genom odvija se mehanizmom TPRT (engl. *target-site primed reverse transcription*). U tom mehanizmu, endonukleaza ORF2p (EN) radi jednolančani urez u genomskoj DNA. Endonukleaza cijepa DNA unutar koncensus-sekvence 5'-TTT/AA-3'. Time se dobiva slobodna 3' OH skupina koja služi kao početnica za reverznu transkripciju. Poli-A rep iz transkripta LINE-1 se komplementarno sparuje sa T-bogatom sekvencom u pocijepanoj DNA. ORF2p reverzna transkriptaza (RT) najprije prepisuje prvi (-) lanac cDNA. Zatim je potrebno napraviti urez u drugom lancu genomske DNA. Drugi urez se radi u pomaku od nekoliko nukleotida u odnosu na onaj prvi, tako da je ugrađeni element LINE-1 omeđen

karakterističnim duplikacijama (TSD, engl. *target site duplications*). Na posljepku, dolazi do sinteze (+) lanca LINE-1 cDNA i do ligacije novosintetizirane DNA (Luqman-Fatah i Miyoshi 2022).



Slika 4. Ciklus transpozicije elementa LINE-1. Prilagođeno prema Doucet i sur. (2010).

Više od 99% elemenata LINE-1 u ljudskom genomu skraćeni su na 5' kraju, ali mehanizam kojim dolazi do tog skraćivanja nije poznat. Moguće je da je to obrambeni mehanizam stanice kojim se nastoji spriječiti daljnja transpozicija, tako da u njemu sudjeluju stanične nukleaze. Osim toga, možda je u pitanju autoregulacijski mehanizam kojim element LINE-1 cijepa sam sebe kako bi se izbjegla njegova nekontrolirana transpozicija (Hancks i Kazazian 2016).

### 3. REGULACIJA RETROTRANSPOZICIJE ELEMENATA LINE-1

Regulacija aktivnosti elementa LINE-1 veoma je važna kako bi se smanjilo njegovo pokretanje i očuvao integritet genoma. Kod ljudi postoji više različitih mehanizama transkripcijske i posttranskripcijske regulacije koji zajedno omogućuju bolju kontrolu.

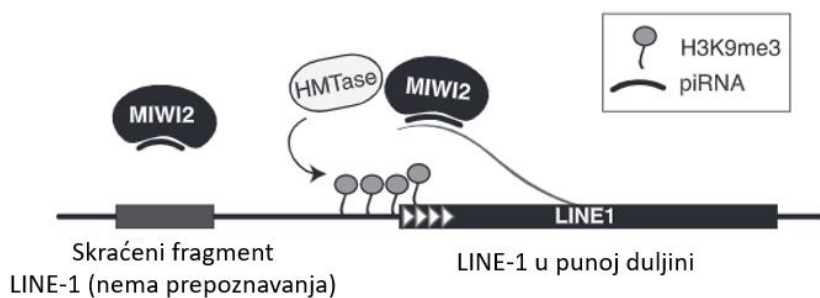
#### 3.1 Transkripcijska regulacija

Za početak, transkripcija elementa LINE-1 se sprječava metilacijom DNA na otoku CpG unutar promotora u regiji 5'-UTR (Woodcock i sur. 1997). Metiltransferaze DNMT3A i 3B uspostavljaju inicijalnu metilaciju tih mjesta tijekom embriogeneze, dok DNMT1 održava metilaciju nakon replikacije DNA (Jönsson i sur. 2020).

Osim metilacije DNA, važne su i histonske modifikacije. Mehanizam metilacije histona unutar elementa LINE-1 je kompleksan i nije do kraja objašnjen. U njega je uključen veliki broj proteina koji prepoznaju *de novo* insercije elemenata LINE-1 i aktiviraju regulatore heterokromatina. Pretpostavlja se da element LINE-1 prepoznaju proteini iz kompleksa HUSH (engl. *human silencing hub*) ili proteini iz skupine KZNF (engl. *Krüppel-associated box zinc finger proteins*). Kompleks HUSH prepoznaje evolucijski starije, a KZNF prepoznaje evolucijski mlađe elemente LINE-1. Nakon prepoznavanja se uključuju različiti modifikatori kromatina: proteini KAP1, SETDB1 ili MORC2. Najvažnija histonska modifikacija povezana s elementima LINE-1 je trimetilacija H3K9me3 (Luqman-Fatah i Miyoshi 2022).

Nadalje, u transkripcijsku regulaciju pokretanja uključene su molekule piRNA (engl. *PIWI-interacting RNA*) koje se prepisuju sa različitih genomskih lokusa. PIWI-piRNA put regulacije transkripcije elementa LINE-1 posebno je važan prilikom spermatogeneze i oogeneze. Ovaj način regulacije je uglavnom istraživan na modelu miša, ali mehanizam je dobro konzerviran u miševa i ljudi.

Pezic i sur. (2014) su utvrdili da molekule piRNA sudjeluju u uspostavljanju represivnih signala H3K9me3 u promotorima elementa LINE-1 prilikom nastajanja mišjih spermatogonija. Kompleks MIWI2-piRNA prepoznaje elemente LINE-1 u jezgri i aktivira histonske-metiltransferaze, što je shematski prikazano na slici 5. Ovako se reguliraju samo aktivni elementi LINE-1, dok skraćeni i neaktivni elementi neće biti prepoznati. Proteini MIWI2 kod miša analogan je ljudskom proteinu PIWIL4. Kod čovjeka, tri vrste proteina PIWI ulaze u interakciju sa piRNA u tkivu testisa: to su PIWIL1, PIWIL2 i PIWIL4. Protein PIWIL3 specifičan je za tkivo jajnika (Kohlrausch i sur. 2021).



Slika 5. Regulacija ekspresije LINE-1 pomoću kompleksa piRNA i MIWI2 proteina kod miša. Prilagođeno prema Pezic i sur. (2014).

Druga vrsta malih RNA molekula koja sudjeluje u regulaciji transkripcije elementa LINE-1, slično piRNA, su endo-siRNA (engl. *endogenous small interfering RNA*). Regulacija pomoću endo-siRNA važna je u somatskim stanicama. To su male, nekodirajuće RNA molekule duge 20-24 pb. One nastaju iz 5'-UTR dijela elementa LINE-1 koji sadrži sense i anti-sense promotore čiji se transkripti komplementarno sparuju. Na taj način nastaje dsRNA koju procesira Dicer1, a jednolančani RNA produkt se povezuje s AGO2 i drugim proteinima koji zajedno tvore RISC (engl. *miRNA-mediated silencing kompleks*) (Yang i Kazazian 2006). Endo-siRNA reguliraju transkripciju elementa LINE-1 tako što stupaju u interakciju sa mašinerijom za utišavanje kromatina. Chen i sur. (2012) su pokazali da endo-siRNA dovode do metilacije promotora pri čemu su H3K9me2 i H3K27me3 najvažnije modifikacije. Ekspresija endo-siRNA je smanjena u stanicama tumora dojke, a vjerojatno i kod drugih tumora (Chen i sur. 2012). Općenito, veliki broj tumora ima smanjenu razinu metilacije DNA u regijama s pokretnim genetičkim elementima što može dovesti do mutacija koje su detaljno opisane u sljedećem poglavlju.

Osim epigenetičke regulacije, postoji i regulacija transkripcijskim faktorima. Proteini SOX2 i p53 su negativni regulatori transkripcije elementa LINE-1. Još nije do kraja objašnjeno na koji način oni smanjuju njegovi transkripciju i pokretanje, ali pretpostavlja se da protein p53 stupa u interakciju sa H3K9 tri-metiltransferazama i DNA metiltransferazama. Uz to, protein p53 je vjerojatno uključen u regulaciju transkripcije piRNA (Tiwari i sur. 2018).

### 3.2 Posttranskripcijska regulacija

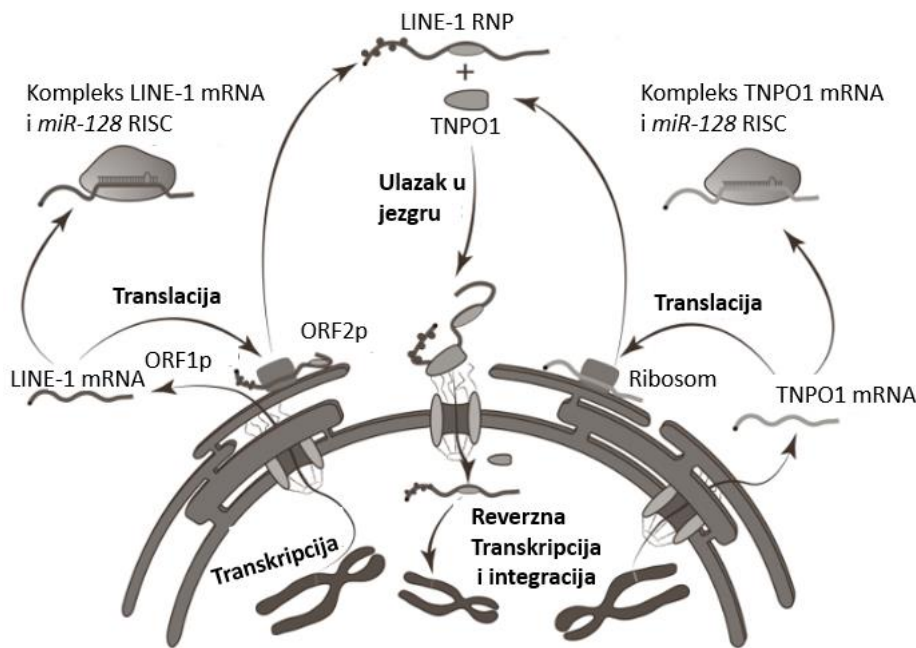
U posttranskripcijskoj regulaciji pokretanja elementa LINE-1 ključne su molekule miRNA (engl. *microRNA*), pri čemu su najvažnije *miR-128* i miRNA iz obitelji *let-7*.

Za molekulu *miR-128* kodiraju dva različita gena. Gen *miR-128-1* nalazi se u intronu gena *R3HDM1*, a gen *miR-128-2* u intronu gena *RCS*. Nakon procesiranja njihovih transkripata nastaje zrela molekula miRNA koja zajedno s proteinom AGO2 i drugim proteinima tvori kompleks RISC (Li i sur. 2013). Hamdorf i sur. (2015) pokazali su da *miR-128* smanjuje pokretanje LINE-1 kod stanične linije HeLa i nekoliko drugih staničnih linija. *miR-128* se komplementarno sparuje sa transkriptom LINE-1 u



području otvorenog okvira čitanja ORF2, a nakon prepoznavanja vjerojatno dolazi do degradacije transkripta u citoplazmi.

TNPO1 (transportin-1) je protein koji je ključan u transportu kompleksa LINE-1 RNP u jezgru. *miR-128* također može utišati ekspresiju gena *TNPO1* – to predstavlja dodatan mehanizam kojim se sprječava pokretanje elementa LINE-1. Mjesto koje prepoznaje molekula *miR-128* nalazi se u regiji 3'-UTR transkripta *TNPO1* (Idica i sur. 2017). Mehanizam regulacije pokretanja elementa LINE-1 pomoću *miR-128* je sažeto prikazan na slici 6.



Slika 6. Prikaz regulacije LINE-1 pomoću *miR-128*. Protein TNPO1 je važan za ulazak LINE-1 RNP u jezgru. *miR-128* smanjuje pokretanje elementa LINE-1 na dva načina: on sprječava translaciju elementa LINE-1, ali i proteina TNPO1. Prilagođeno prema Idica i sur. (2017).

Molekule miRNA iz obitelji *let-7* nazivaju se tumor-supresorskim miRNA zato jer reguliraju ekspresiju brojnih onkogenih gena. Kod čovjeka postoji 9 različitih *let-7* koje se prepisuju sa 12 različitih gena (Lee i sur. 2016). Stanice karcinoma pluća sa aktivnim elementima LINE-1 imaju smanjenu transkripciju miRNA iz obitelji *let-7* što ukazuje na njihovu važnost u regulaciji pokretanja. Mjesto u transkriptu LINE-1 koje prepoznaju molekule *let-7* miRNA nalazi se u regiji ORF2. *Let-7* miRNA na taj način sprječavaju sintezu proteina ORF2p (Tristán-Ramos i sur. 2020).



## 4. Uloga elementa LINE-1 u nastanku tumora

### 4.1 Gubitak regulacije LINE-1 kod tumora

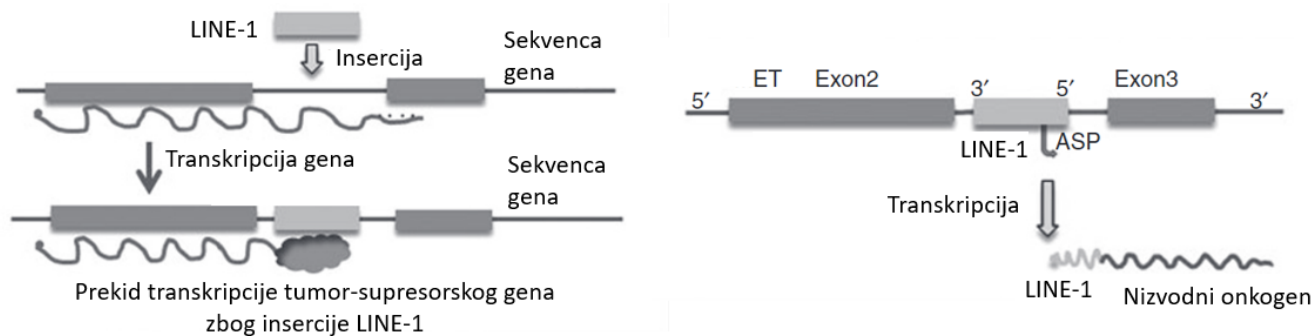
U prethodnom poglavlju opisani su mehanizmi kojima zdrava stanica nastoji držati retrotranspozone LINE-1 pod kontrolom. U tumorskim stanicama često se gubi normalna epigenetička regulacija zbog čega dolazi do globalne hipometilacije DNA i pojačane transkripcije elemenata LINE-1. Mehanizam demetilacije u tumorskim stanicama nije do kraja objašnjen. Nije sigurno je li to posljedica općeg gubitka funkcije mašinerije za metilaciju ili se demetilacije uvode aktivno (Ehrlich 2009). Također, nije poznato jesu li demetilacija i transpozicija elementa LINE-1 pokretači karcinogeneze ili se retrotranspozicija javlja tek nakon početka razvoja tumora (Miousse i Koturbash 2015).

Demetilacija otoka CpG u regiji 5'-UTR elementa LINE-1 zabilježena je u gotovo svim vrstama tumora kod ljudi. Uz to, razina hipometilacije elemenata LINE-1 progresivno se povećava s napretkom nekih tumora (Miousse i Koturbash 2015). Smatra se da bi detekcija hipometilacije elemenata LINE-1 mogla biti korisna u dijagnostici tumora, ali potrebna su dodatna istraživanja kako bi se utvrdila primjena takvog biomarkera (Kitkumthorn i Mutirangura 2011). Zanimljivo je da su Swets i sur. (2017) zabilježili negativnu korelaciju između razine hipometilacije elemenata LINE-1 u ranom stadiju karcinoma debelog crijeva i kasnijeg ishoda bolesti.

Nekontrolirana retrotranspozicija elementa LINE-1 može izazvati mutacije i dovesti do genomske nestabilnosti u tumorskim stanicama na više različitih načina. Neki mehanizmi su opisani u radu Xiao-Jie i sur. iz 2016, a ovdje je napravljen sažetak najvažnijih mehanizama, uz nadopune prema spoznajama iz drugih literaturnih izvora. Mutageneza može biti izravna posljedica transpozicije: tada dolazi do inaktivacije ili aktivacije gena, nastajanja procesiranih pseudogena, 3' transdukcija te do kromosomskih rearanžmana. Osim toga, sama ekspresija elementa LINE-1 može poremetiti neke regulatorne procese u stanici i djelovati destabilizirajuće. Tu je posebno značajna nekontrolirana ekspresija proteina ORF2p.

#### 4.1.1 Inaktivacija ili aktivacija gena uslijed insercije elementa LINE-1

Insercija LINE-1 može inaktivirati tumor-supresorske gene ili aktivirati onkogene, a oba slučaja su zabilježena kod različitih tumora. To shematski prikazuje slika 7. Prva somatska insercija elementa LINE-1 detektirana je 1992. kod pacijenta oboljelog od karcinoma debelog crijeva. Tamo se element LINE-1 umetnuo u egzon tumor-supresorskog gena *APC* i tako ga inaktivirao (Burns 2017). Druga insercija elementa LINE-1 zabilježena je kod pacijenta sa hepatocelularnim karcinomom. Kod njega se element LINE-1 se ugradio u tumor-supresorski gen *MCC*. Inaktivacijom tog gena se pojačava ekspresija  $\beta$ -katenina, što ubrzava proliferaciju tumorskih stanica (Xiao-Jie i sur. 2016).

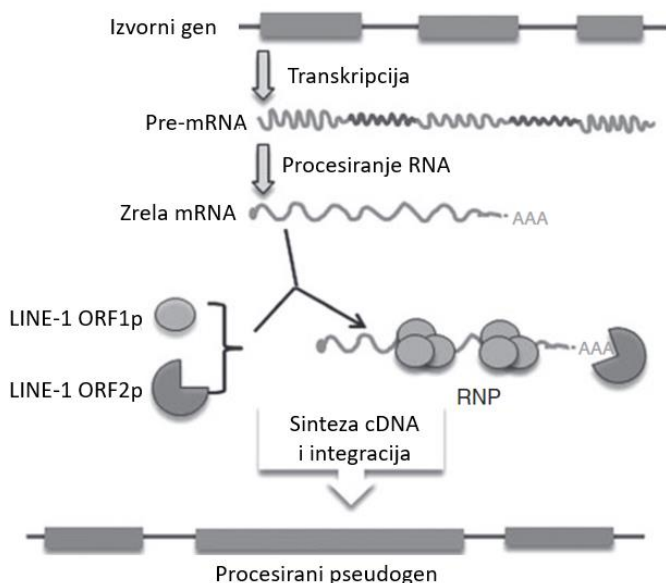


Slika 7. Insercije elementa LINE-1 mogu dovesti do promjene ekspresije tumor-supresorskih gena ili onkogen. Prilagođeno prema Xiao-Jie i sur. (2016).

Nadalje, insercija elemenata LINE-1 može aktivirati transkripciju susjednih onkogenata. Hur i sur. (2014) proveli su veliku analizu uzoraka karcinoma debelog crijeva i metastaza karcinoma jetre. Insercije elemenata LINE-1 su detektirane u intronskim regijama onkogenata *MET*, *RAB3IP* i *CHRM3*. Ekspresiju ovih onkogenata omogućuje hipometilacija antisense promotora elementa LINE-1 (na slici 7 označeno sa ASP).

#### 4.1.2 Nastajanje procesiranih pseudogena

Procesirani pseudogeni nastaju ugradnjom nasumičnih mRNA u genom, na isti način na koji bi se inače ugrađivao transkript LINE-1 (prikazano na slici 8). Procesirani pseudogeni nemaju introne niti netranslatirajuće regije, tako da uglavnom ne mogu vršiti funkciju pravih gena i proizvesti funkcionalne proteine. Ipak, može doći do homologne rekombinacije između pseudogena i originalnog gena (Scott i Devine 2017).



Slika 8. Mehanizam nastajanja procesiranih pseudogena uslijed aktivacije LINE-1. Prilagođeno prema Xiao-Jie i sur. (2016).

Jedan primjer je pseudogen *PsiBRCA1* koji se nalazi uzvodno od gena *BRCA1*. Kod nekih uzoraka tumora dojke i jajnika zabilježena je homologna rekombinacija između 2. introna ovog pseudogena i gena, što uzrokuje veliku deleciju od 37 kb. Tom delecijom tumor-supresorski gen *BRCA1* gubi funkcionalnost (Xiao-Jie i sur. 2014).

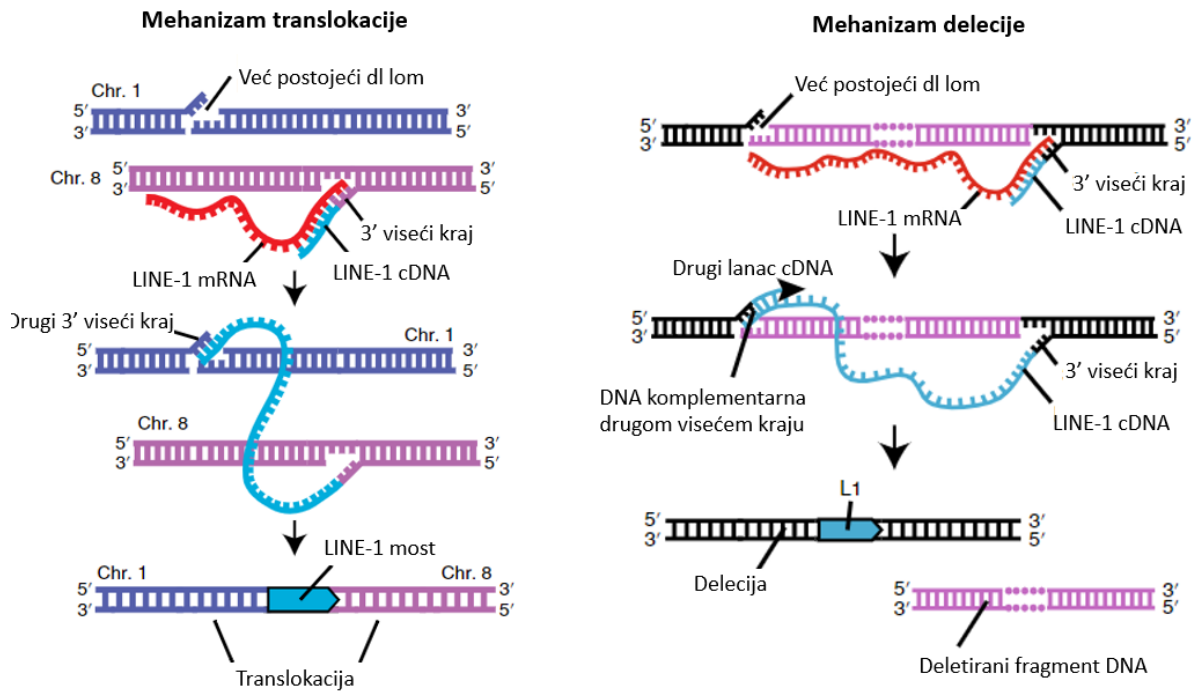
Još jedan zanimljiv fenomen je nastajanje tzv. ceRNA (engl. *competing endogenous RNA*) transkripcijom procesiranih pseudogena. One na sebe mogu vezati miRNA koje bi inače regulirale ekspresiju nekog drugog gena. Recimo, ceRNA pseudogena *PTENPI* kompetitivno veže miRNA koje utišavaju ekspresiju gena *PTEN*. To je tumor-supresorski gen pa u ovom primjeru ceRNA imaju stabilizirajući učinak (Xiao-Jie i sur. 2014).

#### 4.1.3 Kromosomski rearanžmani

S obzirom na veliku zastupljenost elemenata LINE-1 unutar genoma, dva homologna elementa LINE-1 često sudjeluju u mehanizmima popravka dvolančanih lomova u kojima se gubi genetička informacija. To su npr. NAHR (engl. *non-allelic homologous recombination*), NHEJ (engl. *non-homologous end joining*) ili SSA (engl. *single-strand annealing*) (Balachandran i sur. 2022). Ipak, to vjerojatno nisu jedini mehanizmi kojima dolazi do velikih delecija.

Rodriguez-Martin i sur. (2020) napravili su veliku bioinformatičku analizu 2954 tumorskih genoma, s ciljem identifikacije genomskih rearanžmana koje uzrokuje pokretanje elemenata LINE-1. Oni su predložili mehanizme kojima dolazi do delecija i translokacija uslijed retrotranspozicije, što je prikazano na slici 9.

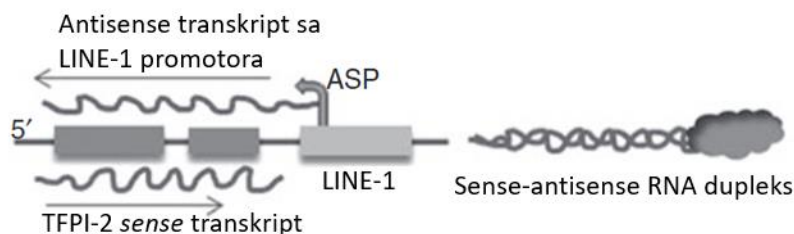
Integracija elementa LINE-1 uvijek započinje jednolančanim lomom u DNA. Do delecije može doći ukoliko molekula DNA ima dvolančani lom uzvodno od mjesta integracije. Tada novoprepisana LINE-1 (-) cDNA može završiti ugradnju na tom mjestu, uz gubitak djela DNA između jednolančanog i dvolančanog loma. U uzorku jednog tumora jednjaka pronađena je delecija od čak 5,3 Mpb zbog koje je izgubljen važan tumor-supresorski gen *CDKN2A*. Mehanizam translokacije je sličan, samo što je ideja da dvolančani lom postoji na drugom kromosomu. Na taj način insercija elementa LINE-1 predstavlja most između dva različita kromosoma. Ovakve translokacije mogu dovesti do gubitka centromernih regija kromosoma i važnih tumor-supresorskih gena.



Slika 9. Mehanizmi delecije i translokacije zbog transpozicije elementa LINE-1 prema Rodriguez-Martin i sur. (2020). Kod delecije, dvolančani lom postoji na istoj molekuli DNA u koju se ugrađuje element LINE-1. Kod translokacije, dvolančani lom je na drugoj molekuli DNA.

#### 4.1.4 Utjecaj elementa LINE-1 na ekspresiju drugih gena

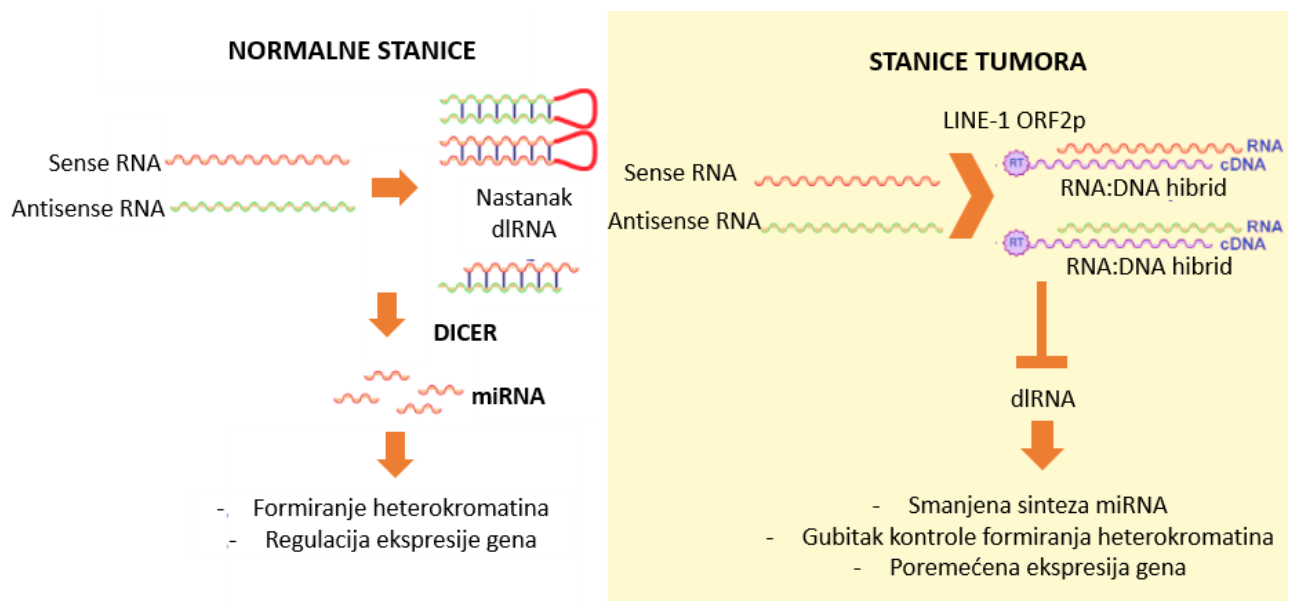
Postoje različiti mehanizmi kojima element LINE-1 može regulirati ekspresiju drugih gena. Važan primjer je utišavanje ekspresije gena kimernim transkriptima. Oni nastaju kada se transkripcija elementa LINE-1 ne zaustavi na vrijeme, već se prepíše i dio nizvodnog gena. Takvi kimerni transkripti mogu se komplementarno sparivati sa pravim transkriptima ako se izvorni gen prepisuje u suprotnoj orijentaciji. Na taj način nastaje sense-antisense RNA dupleks koji utišava ekspresiju gena (Cruickshanks i sur. 2013). Nastajanje kimernog transkripta pokazuje slika 10.



Slika 10. Primjer nastajanja kimernog transkripta elementa LINE-1 i gena *TFPI-2*. On se sparuje sa sense transkriptom gena *TFPI-2* što sprječava njegovu ekspresiju. Prilagođeno prema Xiao-Jie i sur. (2016).

Gen *TFPI-2* je tumor-supresorski gen čija je ekspresija smanjena kod velikog broja tumora (Xiao-Jie i sur. 2016). Kimerni transkript koji sadrži element LINE-1 i dio gena *TFPI-2* zabilježen je kod nekih tumora dojke i debelog crijeva, a u staničnoj kulturi tumora debelog crijeva eksperimentalno je pokazano da takav kimerni transkript smanjuje ekspresiju *TFPI-2*. Općenito, smatra se da su pokretni genetički elementi izvor brojnih regulatornih RNA čiju ulogu u tumorima je potrebno istražiti (Cruickshanks i sur. 2013).

U tumorskim tkivima obično dolazi do velike ekspresije reverzne transkriptaze (ORF2p). Kao što je prethodno opisano, ona sudjeluje u nastanku procesiranih pseudogena, ali također može smanjiti količinu regulatornih miRNA u stanici. Prema modelu kojega su razvili Sciamanna i sur. (2014), reverzna transkriptaza u jezgri preuzima transkripte koje bi normalno procesirao Dicer. Mehanizam je prikazan na slici 11. Tada umjesto formiranja diRNA, nastaju RNA:DNA hibridi iz kojih ne može nastati miRNA. Smanjena ekspresija regulatornih RNA je česta u tumorskim staničnim linijama, a povezuje se sa promijenjenom epigenetičkom kontrolom i nekontroliranom proliferacijom stanica (Sciamanna i sur. 2013).



Slika 11. Inhibicija nastanka miRNA zbog aktivnosti ORF2p reverzne transkriptaze. Sense i antisense lanci RNA se mogu međusobno sparivati, a dvolančanu RNA procesira Dicer. Reverzna transkripcija sprječava procesiranje. Prema Sciamanna i sur. (2013).

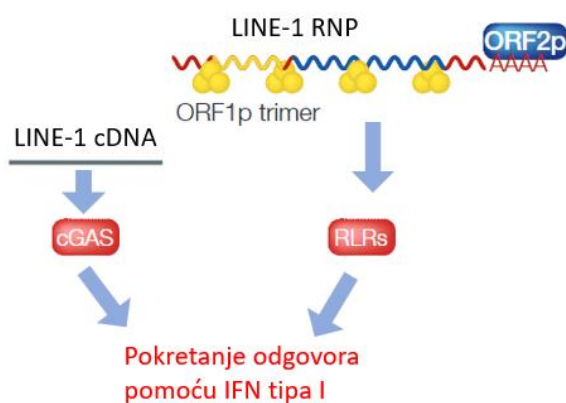
## 5. POVEZANOST ELEMENATA LINE-1 I AUTOIMUNOSTI

Autoimunost je imunosni odgovor na vlastite antigene zbog gubitka imunodne tolerancije. Procjenjuje se da autoimune bolesti zahvaćaju 5-10% populacije. Veliki problem je što se često ne zna njihov točan uzrok – smatra da je riječ o kombinaciji genetičkih i okolišnih čimbenika. Naime, razni genetički čimbenici mogu poremetiti uspostavu tolerancije zbog čega nastaju autoreaktivni limfociti B i T. Autoreaktivni limfociti se zatim aktiviraju uslijed infekcije i upalnih procesa (Rosenblum i sur. 2015). Pojačana ekspresija pokretnih genetičkih elemenata je zabilježena kod nekih autoimunih bolesti, kao što su Aicardi-Goutières sindrom, sistemski eritemski lupus, Sjögrenov sindrom i multipla skleroza. Pretpostavlja se da retrotranspozoni mogu pokrenuti upalnu reakciju koja aktivira autoreaktivne limfocite (Lagisquet i sur. 2021).

Ljudske stanice u svojoj citoplazmi imaju receptore za prepoznavanje uzoraka (PRR, engl. *pattern recognition receptors*) koji služe za detekciju molekula specifičnih za razne mikroorganizme. Te molekule se nazivaju molekularni uzorci patogena (PAMP, engl. *pathogen-associated molecular patterns*) i razlikuju se od molekula koje proizvode naše stanice. Važni PAMP-ovi su virusne nukleinske kiseline i nukleoproteinske čestice. Ipak, PRR-ovi nekada umjesto virusnih PAMP-ova prepoznaju stanične retrotranspozone što pokreće imunosni odgovor (Volkman i Stetson 2014).

### 5.1 Mehanizmi pokretanja imunosnog odgovora

Prepoznavanje elementa LINE-1 može pokrenuti imunosni odgovor na dva različita načina. Poanta je u tome da različiti PRR-ovi prepoznaju element LINE-1 u različitim fazama ciklusa retrotranspozicije, ovisno o tome je li on u obliku mRNA ili cDNA. Njihovo prepoznavanje se uvijek odvija u citoplazmi. RLR (engl. *RIG-like receptors*) prepoznaju mRNA LINE-1 u obliku ribonukleoproteinske čestice. S druge strane, citosolni DNA senzor cGAS (engl. *cyclic GMP-AMP synthase*) prepoznaje cDNA LINE-1. Oba puta prepoznavanja u konačnici vode do ekspresije interferona tipa I (Lagisquet i sur. 2021). To je sažeto prikazano na slici 12.



Slika 12. Shema dva različita puta prepoznavanja elementa LINE-1 u citoplazmi koji pokreću imunosni odgovor sintezom interferona tipa I. Prema Luqman-Fatah i Miyoshi (2022).

### 5.1.1 Imunosni odgovor na LINE-1 cDNA

cDNA LINE-1 pokreće imunosni odgovor preko signalnog puta cGAS/STING. cGAS je stanični senzor za dvolančanu DNA, tako da cDNA LINE-1 vjerojatno formira dvolančanu ukosnicu. Vežanjem dDNA na cGAS pokreće se sinteza sekundarnog glasnika cikličkog GMP-AMP-a koji aktivira STING (engl. *stimulator of interferon genes*). Tada se pokreće signalna kaskada zbog koje se pojačano prepisuju proupalni geni i interferoni tipa I (Lagisquet i sur. 2021). Nije poznato zašto dolazi do nakupljanja cDNA LINE-1 u citoplazmi jer u ciklusu retrotranspozicije (slika 4) u citoplazmu ulazi samo LINE-1 mRNA. Moguće je da se reverzna transkripcija odvija u citoplazmi bez DNA kalupa ukoliko ima dovoljno proteina ORF2p. Osim toga, moguće je da jednolančana cDNA dospijeva u citoplazmu nakon abortivne integracije elementa LINE-1 u genom (Thomas i sur. 2017).

Autoimuna bolest AGS (Aicardi-Goutières sindrom) je bitna jer je kod nje prvi put otkriveno da retrotranspozonska cDNA pokreće autoimuni odgovor. To je vrlo teška bolest koja simptomima podsjeća na intrauterinu virusnu infekciju. Pacijenti oboljeli od AGS-a imaju loss-of-function mutaciju gena *TREX1* i visoku ekspresiju interferona tipa I (Lagisquet i sur. 2021).

TREX1 je egzonukleaza koja kod zdravih osoba razgrađuje reverzno-transkribiranu cDNA u citoplazmi: nemogućnost degradacije LINE-1 i SINE cDNA te njihovo konstantno prepoznavanje od strane imunskog sustava glavni je uzrok AGS. Za istraživanje AGS-a bili su važni pokusi na miševima koji su delecijски mutanti za *TREX1*. Eksperimentalno je pokazano da su njihove citoplazme imale veći sadržaj retrotranspozonskih sekvenci u odnosu na kontrolne miševe. Takvi miševi razvijaju autoimuni fenotip i miokarditis. Također je pokazano da inhibitori reverzne transkriptaze mogu umanjiti simptome i povećati njihov životni vijek. Zanimljivo je da su neki polimorfizmi gena *TREX1* povezani sa sistemskim eritemskim lupusom, pa je potrebno istražiti njegovu funkciju kod te autoimune bolesti (Volkman i Stetson 2014).

Također, cDNA LINE-1 pokreće neke upalne procese povezane sa starenjem. Ekspresija elementa LINE-1 je pojačana u staničnim kulturama starih fibroblasta zbog gubitka mehanizama epigenetičke kontrole. U takvim stanicama dolazi do pojačane ekspresije interferona tipa I (De Cecco i sur. 2019). Citosolno nakupljanje LINE-1 cDNA u stanicama mozga ima potencijalno važnu ulogu u neuroinflamaciji i drugim patološkim stanjima povezanim sa starenjem (Simon i sur. 2019). Poveznica između neurodegenerativnih bolesti i ekspresije LINE-1 uspostavljena je tek nedavno, tako da to predstavlja zanimljivu temu za daljnja istraživanja.

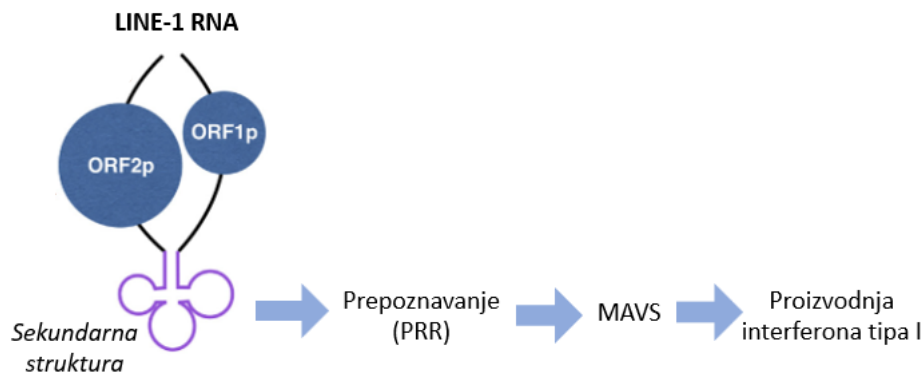
### 5.1.2 Imunosni odgovor na kompleks LINE-1 RNP

mRNA LINE-1 prisutna je u citoplazmi u kompleksu sa ORF1p i ORF2p, čime nastaje kompleks RNP. Postoji više različitih PRR koji inače prepoznaju virusnu jednolančanu RNA. mRNA LINE-1 pretežno prepoznaju prepoznaju RIG-like receptori (citosolne helikaze RIG-I i MDA5). One zatim aktiviraju MAVS (engl. *mitochondrial antiviral-signaling protein*) što dovodi do sinteze interferona tipa I. Smatra



se da imunosni odgovor na LINE-1 RNP uzrokuje sistemski eritemski lupus kod nekih pacijenata (Mavragani i sur. 2016).

Zhao i sur. (2018) predložili su mehanizam prepoznavanja LINE-1 RNA od strane RIG-like receptora. Tu su važni proteini ORF1p i ORF2p koji mijenjaju konformaciju molekule RNA: na taj način određene primarne ili sekundarne strukture RNA postaju dostupne za prepoznavanje, što prikazuje slika 13. Moguće je da na se na taj način izbjegava nepotrebna aktivacija PRR-ova ako se dijelovi elementa LINE-1 prepisuju u sklopu nekih drugih gena. Tada neće doći do sinteze ORF1p/2p, pa se ovim načinom prepoznavanja vjerojatno izbjegava učestali autoimuni odgovor.



Slika 13. Pretpostavljeni mehanizam prepoznavanja LINE-1 RNP. Prilagođeno prema Zhao i sur. (2018).

U istraživanju Zhao i sur. (2018) stanična kultura monocita THP-1 je tretirana molekulama siRNA koje sprječavaju ekspresiju elementa LINE-1. Pokazano je da to smanjuje proizvodnju interferona tipa I. Iz povezanosti elementa LINE-1 i imunskog sustava proizlazi zanimljiva pretpostavka zašto je mali broj njegovih kopija i dalje aktivan kod ljudi. Naime, mnogi proteini koji sudjeluju u prepoznavanju i supresiji elemenata LINE-1 ujedno pokreću i antivirusni odgovor. Moguće je da transpozicija elementa LINE-1 drži imunski sustav u bazalnom stanju pripravnosti i na taj način pruža svojevrsnu zaštitu od virusne infekcije. Još nije do kraja objašnjena funkcija elementa LINE-1 u urođenom imunskom odgovoru, ali zanimljivo je razmotriti na koje sve načine retrotranspozoni mogu biti korisni za stanicu.



## 6. ZAKLJUČAK

Retrotranspozon LINE-1, kao jedini autonomni pokretni genetički element kod ljudi, važan je uzrok mutacija koje mogu dovesti do razvoja bolesti. Transkripciju i transpoziciju elementa LINE-1 kontrolira više različitih mehanizama regulacije u zdravim stanicama. Ipak, kada element LINE-1 izbjegne tu strogu kontrolu, vrlo brzo može povećati broj svojih kopija i na taj način poremetiti integritet genoma. U ovom seminaru je objašnjeno da to može biti osobito važno kod tumorskih stanica, makar i dalje nije sigurno je li element LINE-1 pokretač karcinogeneze ili je njegova transpozicija posljedica općeg gubitka epigenetičke regulacije u tumorskim stanicama. U svakom slučaju, insercije elementa LINE-1 mogu dovesti do aktivacije onkogeni, inaktivacije tumor-supresorskih gena ili do kromosomskih rearanžmana. Također, proteini ORF1p i ORF2p mogu ugraditi nasumične transkripte u genom čime nastaju procesirani pesudogeni. Transkripti LINE-1 su važni jer mogu utjecati na regulaciju drugih gena i utjecati na razinu miRNA u stanici.

Ekspresija elementa LINE-1 može potaknuti autonomni imunski odgovor. To se događa jer PRR koji prepoznaju virusne nukleinske kiseline mogu prepoznati LINE-1 mRNA ili cDNA i tako aktivirati proizvodnju interferona tipa I. Moguće je da će se u budućnosti razvijati lijekovi za autoimune bolesti ili tumore koji ciljaju upravo transpoziciju elementa LINE-1. Oni bi bili koristan dodatak u liječenju tumora jer bi se tako mogla smanjiti destabilizacija genoma u tumorskim stanicama. Uz to, bilo bi dobro istražiti uključenost elementa LINE-1 u nastanak neurodegenerativnih bolesti zato jer procese neuroinflamacije možda potiče ekspresija pokretnih genetičkih elemenata.

## 7. LITERATURA

- Babushok D. V., Kazazian H.H. (2007): Progress in understanding the biology of the human mutagen LINE-1. *Hum Mutat* **28**: 527–539.
- Balachandran P., Walawalkar I.A., Flores J.I., Dayton J.N., Audano P.A., Beck C.R. (2022): Transposable element-mediated rearrangements are prevalent in human genomes. *Nat Commun* **13**: 7115. DOI 10.1038/s41467-022-34810-8.
- Beck C.R., Garcia-Perez J.L., Badge R.M., Moran J. V. (2011): LINE-1 elements in structural variation and disease. *Annu Rev Genomics Hum Genet* **12**: 187–215.
- Burns K.H. (2017): Transposable elements in cancer. *Nat Rev Cancer* **17**: 415–424.
- Callinan P.A., Batzer M.A. (2006). Retrotransposable Elements and Human Disease. *Genome Dyn* **1**: 104–115.
- Cecco M. De, Ito T., Petrashen A.P., Elias A.E., Skvir N.J., Criscione S.W., Caligiana A., Broccoli G., Adney E.M., Boeke J.D., Le O., Beauséjour C., Ambati J., Ambati K., Simon M., Seluanov A., Gorbunova V., Slagboom P.E., Helfand S.L., Neretti N., Sedivy J.M. (2019): L1 drives IFN in senescent cells and promotes age-associated inflammation. *Nature* **566**: 73–78.
- Chen L., Dahlstrom J.E., Lee S.H., Rangasamy D. (2012): Naturally occurring endo-siRNA silences LINE-1 retrotransposons in human cells through DNA methylation. *Epigenetics* **7**: 758–771.
- Clements A.P., Singer M.F. (1998). The human LINE-1 reverse transcriptase: effect of deletions outside the common reverse transcriptase domain. *Nucleic Acids Res* **26**: 3528–3535.
- Cruickshanks H.A., Vafadar-Isfahani N., Dunican D.S., Lee A., Sproul D., Lund J.N., Meehan R.R., Tufarelli C. (2013): Expression of a large LINE-1-driven antisense RNA is linked to epigenetic silencing of the metastasis suppressor gene TFPI-2 in cancer. *Nucleic Acids Res* **41**: 6857–6869.
- Doucet A.J., Hulme A.E., Sahinovic E., Kulpa D.A., Moldovan J.B., Kopera H.C., Athanikar J.N., Hasnaoui M., Bucheton A., Moran J. V., Gilbert N. (2010): Characterization of LINE-1 ribonucleoprotein particles. *PLoS Genet* **6**: 1–19.
- Ehrlich M. (2009): DNA hypomethylation in cancer cells. *Epigenomics* **1**: 239–259.
- Gerdes P., Richardson S.R., Mager D.L., Faulkner G.J. (2016): Transposable elements in the mammalian embryo: Pioneers surviving through stealth and service. *Genome Biol* **17**: 100. DOI 10.1186/s13059-016-0965-5.

- Hamdorf M., Idica A., Zisoulis D.G., Gamelin L., Martin C., Sanders K.J., Pedersen I.M. (2015): MiR-128 represses L1 retrotransposition by binding directly to L1 RNA. *Nat Struct Mol Biol* **22**: 824–831.
- Hancks D.C., Kazazian H.H. (2012): Active human retrotransposons: Variation and disease. *Curr Opin Genet Dev* **22**: 191–203.
- Hancks D.C., Kazazian H.H. (2016): Roles for retrotransposon insertions in human disease. *Mob DNA* **7**: 9. DOI 10.1186/s13100-016-0065-9.
- Hur K., Cejas P., Feliu J., Moreno-Rubio J., Burgos E., Boland C.R., Goel A. (2014): Hypomethylation of long interspersed nuclear element-1 (LINE-1) leads to activation of protooncogenes in human colorectal cancer metastasis. *Gut* **63**: 635–646.
- Idica A., Sevrioukov E.A., Zisoulis D.G., Hamdorf M., Daugaard I., Kadandale P., Pedersen I.M. (2017): MicroRNA miR-128 represses LINE-1 (L1) retrotransposition by down-regulating the nuclear import factor TNPO1. *Journal of Biological Chemistry* **292**: 20494–20508.
- Jönsson M.E., Garza R., Johansson P.A., Jakobsson J. (2020): Transposable Elements: A Common Feature of Neurodevelopmental and Neurodegenerative Disorders. *Trends in Genetics* **36**: 610–623.
- Kazazian H.H., Moran J. V. (2017): Mobile DNA in Health and Disease. *New England Journal of Medicine* **377**: 361–370.
- Kidwell M.G., Lisch D.R. (2001). *Perspective: Transposable Elements, Parasitic DNA, and Genome Evolution*. *Source: Evolution* **55**: 1–24.
- Kitkumthorn N., Mutirangura A. (2011): Long interspersed nuclear element-1 hypomethylation in cancer: Biology and clinical applications. *Clin Epigenetics* **2**: 315–330.
- Kohlrausch F.B., Berteli T.S., Wang F., Navarro P.A., Keefe D.L. Control of LINE-1 Expression Maintains Genome Integrity in Germline and Early Embryo Development. **29**: 328–340.
- Lagisquet J., Zuber K., Gramberg T. (2021): Recognize yourself—innate sensing of non-ltr retrotransposons. *Viruses* **13**: 94. DOI 10.3390/v13010094.
- Lee H., Han S., Kwon C.S., Lee D. (2016): Biogenesis and regulation of the let-7 miRNAs and their functional implications. *Protein Cell* **7**: 100–113.
- Li M., Fu W., Wo L., Shu X., Liu F., Li C. (2013): MiR-128 and its target genes in tumorigenesis and metastasis. *Exp Cell Res* **319**: 3059–3064.
- Luqman-Fatah A., Miyoshi T. (2022): Human LINE-1 retrotransposons: impacts on the genome and regulation by host factors. *Genes Genet Syst* DOI 10.1266/ggs.22-00038.

- Makałowski W., Gotea V., Pande A., Makałowska I. (2019): Transposable elements: Classification, identification, and their use as a tool for comparative genomics. *Methods in Molecular Biology* **1910**: 177–207.
- Mavragani C.P., Sagalovskiy I., Guo Q., Nezos A., Kapsogeorgou E.K., Lu P., Liang Zhou J., Kirou K.A., Seshan S. V., Moutsopoulos H.M., Crow M.K. (2016): Expression of Long Interspersed Nuclear Element 1 Retroelements and Induction of Type I Interferon in Patients With Systemic Autoimmune Disease. *Arthritis and Rheumatology* **68**: 2686–2696.
- Miousse I.R., Koturbash I. (2015): The Fine LINE: Methylation Drawing the Cancer Landscape. *Biomed Res Int* DOI 10.1155/2015/131547.
- Moran J. V, Holmes S.E., Thierry, Naas P., Deberardinis R.J., Boeke J.D., Kazazian H.H. (1996). High Frequency Retrotransposition in Cultured Mammalian Cells. *Eickbush* **87**: 917–927.
- Pezic D., Manakov S.A., Sachidanandam R., Aravin A.A. (2014): piRNA pathway targets active LINE1 elements to establish the repressive H3K9me3 mark in germ cells. *Genes Dev* **28**: 1410–1428.
- Ravel-Godreuil C., Znaidi R., Bonnifet T., Joshi R.L., Fuchs J. (2021): Transposable elements as new players in neurodegenerative diseases. *FEBS Lett* **595**: 2733–2755.
- Richardson S.R., Doucet A.J., Kopera H.C., Moldovan J.B., Garcia-Perez J.L., Moran J. V. (2015): The Influence of LINE-1 and SINE Retrotransposons on Mammalian Genomes. *Microbiol Spectr* **3**: 1165–1208.
- Rodriguez-Martin B., Alvarez E.G., Baez-Ortega A., Zamora J., Supek F., Demeulemeester J., Santamarina M., Ju Y.S., ... Mering C. von (2020): Pan-cancer analysis of whole genomes identifies driver rearrangements promoted by LINE-1 retrotransposition. *Nat Genet* **52**: 306–319.
- Rosenblum M.D., Remedios K.A., Abbas A.K. (2015): Mechanisms of human autoimmunity. *Journal of Clinical Investigation* **125**: 2228–2233.
- Saleh A., Macia A., Muotri A.R. (2019): Transposable elements, inflammation, and neurological disease. *Front Neurol* **10**: 894. DOI 10.3389/fneur.2019.00894.
- Sciamanna I., Gualtieri A., Cossetti C., Osimo E.F., Ferracin M., Macchia G., Aricò E., Prosseda G., Vitullo P., Misteli T., Spadafora C. (2013). *A tumor-promoting mechanism mediated by retrotransposon-encoded reverse transcriptase is active in human transformed cell lines*. *Oncotarget* **4**: 2271–2287.
- Sciamanna I., Gualtieri A., Piazza P.V., Spadafora C. (2014). Regulatory roles of LINE-1-encoded reverse transcriptase in cancer onset and progression. *Oncotarget* **5**: 8039–8051.
- Scott E.C., Devine S.E. (2017): The role of somatic L1 retrotransposition in human cancers. *Viruses*. **9**: 131. DOI 10.3390/v9060131.

- Simon M., Meter M. Van, Ablaeva J., Ke Z., Gonzalez R.S., Taguchi T., Cecco M. De, Leonova K.I., Kogan V., Helfand S.L., Neretti N., Roichman A., Cohen H.Y., Meer M. V., Gladyshev V.N., Antoch M.P., Gudkov A. V., Sedivy J.M., Seluanov A., Gorbunova V. (2019): LINE1 Derepression in Aged Wild-Type and SIRT6-Deficient Mice Drives Inflammation. *Cell Metab* **29**: 871-885.
- Swets M., Zaalberg A., Boot A., Wezel T. Van, Frouws M.A., Bastiaannet E., Gelderblom H., Velde C.J.H. Van de, Kuppen P.J.K. (2017): Tumor LINE-1 methylation level in association with survival of patients with stage ii colon cancer. *Int J Mol Sci* **18**: 36. DOI 10.3390/ijms18010036.
- Thomas C.A., Tejwani L., Trujillo C.A., Negraes P.D., Herai R.H., Mesci P., Macia A., Crow Y.J., Muotri A.R. (2017): Modeling of TREX1-Dependent Autoimmune Disease using Human Stem Cells Highlights L1 Accumulation as a Source of Neuroinflammation. *Cell Stem Cell* **21**: 319-331.
- Tiwari B., Jones A.E., Abrams J.M. (2018): Transposons, p53 and Genome Security. *Trends in Genetics* **34**: 846–855.
- Tristán-Ramos P., Rubio-Roldan A., Peris G., Sánchez L., Amador-Cubero S., Viollet S., Cristofari G., Heras S.R. (2020): The tumor suppressor microRNA let-7 inhibits human LINE-1 retrotransposition. *Nat Commun* **11**: 5712. DOI 10.1038/s41467-020-19430-4.
- Tubio J.M.C., Li Y., Ju Y.S., Martincorena I., Cooke S.L., Tojo M., Gundem G., Pipinikas C.P., ... Campbell P.J. (2014): Extensive transduction of nonrepetitive DNA mediated by L1 retrotransposition in cancer genomes. *Science* (1979) **345**: 1251343. DOI 10.1126/science.1251343.
- Volkman H.E., Stetson D.B. (2014): The enemy within: Endogenous retroelements and autoimmune disease. *Nat Immunol* **15**: 415–422.
- Wang H., Xing J., Grover D., Hedges Kyudong Han D.J., Walker J.A., Batzer M.A. (2005): SVA elements: A hominid-specific retroposon family. *J Mol Biol* **354**: 994–1007.
- Woodcock D.M., Lawler C.B., Linsenmeyer M.E., Doherty J.P., Warren W.D. (1997): Asymmetric methylation in the hypermethylated CpG promoter region of the human L1 retrotransposon. *Journal of Biological Chemistry* **272**: 7810–7816.
- Xiao-Jie L., Ai-Mei G., Li-Juan J., Jiang X. (2014): Pseudogene in cancer: Real functions and promising signature. *J Med Genet* **52**: 17–24.
- Xiao-Jie L., Hui-Ying X., Qi X., Jiang X., Shi-Jie M. (2016): LINE-1 in cancer: Multifaceted functions and potential clinical implications. *Genetics in Medicine* **18**: 431–439.
- Yang N., Kazazian H.H. (2006): L1 retrotransposition is suppressed by endogenously encoded small interfering RNAs in human cultured cells. *Nat Struct Mol Biol* **13**: 763–771.

Zhao K., Du J., Peng Y., Li P., Wang S., Wang Y., Hou J., Kang J., Zheng W., Hua S., Yu X.F. (2018):  
LINE1 contributes to autoimmunity through both RIG-I- and MDA5-mediated RNA sensing  
pathways. *J Autoimmun* **90**: 105–115.

## 8. ŽIVOTOPIS

Završila sam Prirodoslovnu školu Vladimira Preloga 2019. godine, nakon čega upisujem preddiplomski studij Molekularne biologija na PMF-u u Zagrebu. Tijekom srednje škole sudjelovala sam na Međunarodnoj prirodoslovnoj olimpijadi mladih (IJSO) i International Conference of Young Scientists (ICYS). Za vrijeme studija imala sam priliku proširiti svoje znanje na raznim praksama. Na ljeto 2021. sudjelovala sam u radu grupe u Laboratoriju za molekularnu ekotoksikologiju na Institutu Ruđer Bošković. Zatim sam 2022. godine u sklopu programa „Biozentrum research summer“ dobila stipendiju Sveučilišta u Baselu za ljetnu praksu. Tamo sam sudjelovala u radu Laboratorija za sistemsku biologiju. Također, u ljetnom semestru 2023. bila sam na stručnoj praksi u Grupi za bioinformatiku na Biološkom odsjeku.