

Pokretni genetički elementi i stabilnost genoma

Bertoncelj, Iris

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:217:495098>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2025-01-18**



Repository / Repozitorij:

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



Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Iris Bertoncelej

**Pokretni genetički elementi i stabilnost
genoma**

Završni rad

Zagreb, 2023.

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Iris Bertoncelej

**Transposable genetic elements and genome
stability**

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. Višnje Besendorfer.

TEMELJNA DOKUMENTACIJSKA KARTICA

Sveučilište u Zagrebu
Prirodoslovno-matematički fakultet
Biološki odsjek

Završni rad

Pokretni genetički elementi i stabilnost genoma

Iris Bertoncelj

Rooseveltov trg 6, 10000 Zagreb, Hrvatska

Pokretni genetički elementi široko su rasprostranjeni u genomu i utječu na njegovu stabilnost. Transpozoni LINE-1, Alu i SVA su aktivni i mogu se pokretati, dok su ostali transpozoni prisutni u genomu inaktivni. Transpozoni su najčešće utišani pomoću metilacije molekule DNA, histonskih modifikacija i malih molekula RNA. Pokretni genetički elementi mogu negativno utjecati na stabilnost genoma na različite načine. Mogu uzrokovati greške prilikom popravka dvolančanih lomova, insercijom inaktivirati gene te uzrokovati delecije, duplikacije i kromosomske rearanžmane. Također mogu u genom uvesti alternativne promotore, pojačivače i mjesta prekranja te tako utjecati na ekspresiju gena. Izvor su mikrosatelita. Prisutnost transpozona u genomu može dovesti do epigenetičkog utišavanja susjednih gena. Pokretni genetički elementi povezani su s velikim brojem bolesti, uključujući genetičke poremećaje te različite tipove raka. Međutim, točni mehanizmi kojima transpozoni uzrokuju bolesti većinom nisu poznati te su stoga potrebna daljnja istraživanja na ovom području.

Ključne riječi: transpozoni, nestabilnost genoma, mutacije, genetički poremećaji, rak
(17 stranica, 4 slike, 1 tablica, 32 literaturna navoda, jezik izvornika: hrvatski)

Rad je pohranjen u Središnjoj biološkoj knjižnici

Mentor: prof. dr. sc. Višnja Besendorfer

BASIC DOCUMENTATION CARD

University of Zagreb
Faculty of Science
Department of Biology

Bachelor thesis

Transposable genetic elements and genome stability

Iris Bertonceļj

Rooseveltovej 6, 10000 Zagreb, Croatia

Transposable elements are widely distributed in the genome and affect its stability. LINE-1, Alu, and SVA elements are active and capable of mobilization, while other transposons present in the genome are inactive. Transposons are normally silenced by DNA methylation, histone modifications and small RNAs. Transposable genetic elements can negatively affect genome stability in different ways. They can disrupt double-strand break repair, inactivate genes via insertion and cause deletions, duplications and chromosome rearrangements. Additionally, they can affect gene expression by introducing alternative promoters, enhancers and splice sites. They are a source of microsatellites. The presence of transposons in the genome can result in epigenetic silencing of neighboring genes. Transposable genetic elements are associated with a large number of diseases, including genetic disorders and various types of cancer. However, the precise mechanisms by which transposons cause diseases are largely unknown. Therefore, further research in this area is required.

Keywords: transposons, genome instability, mutations, genetic disorders, cancer

(17 pages, 4 figures, 1 table, 32 references, original in: Croatian)

Thesis is deposited in Central Biological Library.

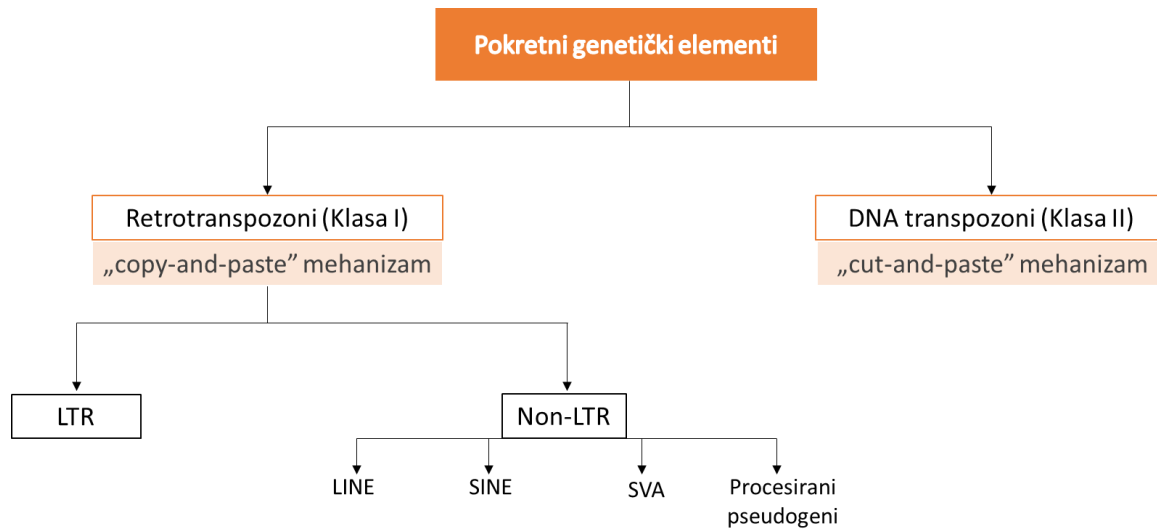
Mentor: prof. dr. sc. Višnja Besendorfer

Sadržaj

1	Uvod	1
2	Pokretni genetički elementi u ljudskom genomu	2
3	Obrambeni mehanizmi domaćina	3
3.1	Metilacija molekule DNA.....	3
3.2	Modifikacije histona	4
3.3	Regulacija pokretnih genetičkih elemenata pomoću malih molekula RNA.....	4
4	Utjecaj pokretnih genetičkih elemenata na stabilnost genoma.....	5
4.1	Pokretni genetički elementi i popravak dvolančanih lomova.....	5
4.2	Mutacije povezane s insercijom pokretnih genetičkih elemenata	7
4.3	Nestabilnost povezana s inverznim ponavljanjima	7
4.4	Utjecaj transpozona na epigenetičke regulatorne mehanizme.....	8
4.5	Pokretni genetički elementi kao izvor mikrosatelita.....	8
4.6	Utjecaj transpozona na ekspresiju gena	8
4.7	Pokretni genetički elementi i bolesti.....	9
4.7.1	Genetički poremećaji	9
4.7.2	Rak.....	10
5	Zaključak	12
6	Literatura.....	13
7	Životopis.....	17

1 Uvod

Pokretni genetički elementi ili transpozoni su slijedovi u molekuli DNA koji se mogu pomicati s jednog mjesta u genomu na drugo procesom koji se naziva transpozicija. S obzirom na mehanizam transpozicije, transpozoni se dijele u dvije skupine: elemente klase I, odnosno retrotranspozone, i elemente klase II ili DNA transpozone (**Slika 1.**). DNA transpozoni premještaju se unutar genoma mehanizmom „*cut-and-paste*“ za koji je potreban enzim transpozaza. DNA transpozon se izreže iz genoma i ponovno se ugradi na drugo mjesto. Tim se mehanizmom ne povećava broj kopija transpozona u genomu, već im se samo mijenja položaj. S druge strane, retrotranspozoni se umeću na nova mjesta u genomu pomoću mehanizma „*copy-and-paste*“ koji uključuje reverznu transkripciju (RT) RNA intermedijera. Tim se mehanizmom povećava broj kopija retrotranspozona u genomu. Retrotranspozoni se dalje dijele na LTR- i non-LTR skupine. LTR-retrotranspozoni sadrže dugačka ponavljanja na krajevima. Skupina non-LTR- retrotranspozona uključuje elemente LINE i SINE, koji sadrže poli-A rep.



Slika 1. Podjela pokretnih genetičkih elemenata.

Transpozoni se prema sposobnosti za premještanje dijele na autonomne i neautonomne. Autonomni transpozoni posjeduju sve gene potrebne za samostalno premještanje unutar genoma. Neautonomnim transpozonomima nedostaju neki od gena potrebnih za transpoziciju pa se koriste proteinima koje kodiraju autonomni elementi.

Stabilnost genoma je svojstvo svih organizama da očuvaju genetičku informaciju i vjerno je prenesu na iduće generacije ili iz jedne somatske stanice u drugu. S druge strane, nestabilnost genoma odnosi se na pojavu visoke učestalosti mutacija u genomu zbog mutagena koji uzrokuju oštećenja DNA ili defekata u genima za popravak DNA (Kovalchuk, 2016). Mobilizacija pokretnih genetičkih elemenata može uzrokovati mutacije, rearanžmane kromosoma, alternativno prekrajanje (alternative splicing) i epigenetičke promjene te stoga dovodi do nestabilnosti genoma. Tijekom evolucije razvili su se različiti transkripcijski i posttranskripcijski mehanizmi obrane stanica domaćina od utjecaja transpozona.

Pokretni genetički elementi široko su rasprostranjeni u genomima mnogih skupina organizama, kako u prokariota, tako i u eukariota. Međutim, u ovom radu usredotočit ću se na transpozone u ljudskom genomu, njihov učinak na stabilnost genoma te mehanizme kojima se stanice domaćina brane od transpozona.

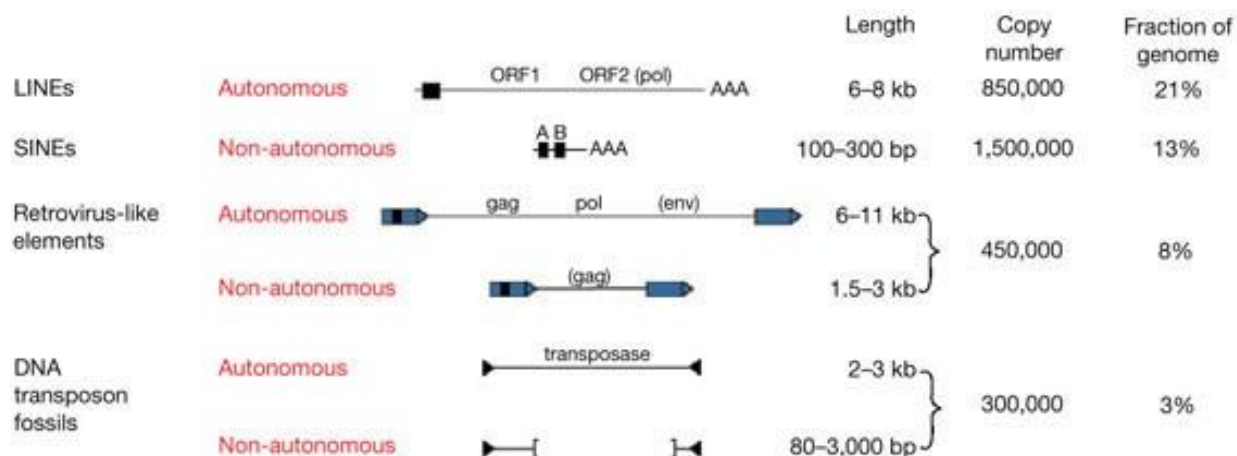
2 Pokretni genetički elementi u ljudskom genomu

Pokretni genetički elementi čine oko 45% ukupnog ljudskog genoma (**Slika 2.** Vrste pokretnih genetičkih elemenata u ljudskom genomu (Lander i sur., 2001).). Najbrojniji su elementi LINE koji čine 21% genoma, zatim elementi SINE i LTR-retrotranspozoni, a najmalobrojniji su DNA transpozoni (Lander i sur., 2001).

Elementi LINE1 među najbrojnijim su transpozonomima u sisavaca (Platt i sur., 2018) te čine 17% genoma čovjeka (Gasior i sur., 2006). Cjeloviti transpozoni LINE-1 dugi su 6 kb te kodiraju RNA-vezujući protein ORF1p i protein ORF2p koji ima endonukleaznu i RT aktivnost, a u regiji 5'-UTR nalazi se promotor (Han i sur., 2005). Takvi LINE-1 su autonomni te su to jedini autonomni aktivni transpozoni u genomu čovjeka. Danas u genomu čovjeka postoji 60 do 100 aktivnih LINE-1 (Ardeljan i sur., 2017). Međutim, oko 99,9% elemenata LINE-1 prisutnih u ljudskom genomu nije sposobno za transpoziciju (Platt i sur., 2018) zbog točkastih mutacija, skraćanja 5' kraja ili drugih rearanžmana.

Osim LINE-1, u ljudskom su genomu aktivni i elementi Alu i SVA (Bhat i sur., 2022). Oni su neautonomni i za mobilizaciju koriste reverznu transkriptazu koju kodira LINE-1. U ljudskom genomu postoji oko 3000 kopija elementa SVA (Cordaux i Batzer, 2009) i više od milijun kopija elementa Alu te se u prosjeku svake 3 kb nalazi jedan element Alu. Elementi Alu sklone su

rekombinaciji zbog učestalosti u genomu, kao i velike sličnosti u sekvencama različitih potporodica (Sen i sur., 2006).



Slika 2. Vrste pokretnih genetičkih elemenata u ljudskom genomu (Lander i sur., 2001).

Većina transpozona prisutnih u ljudskom genomu inaktivna je zbog mutacija nastalih prilikom i nakon insercije u genom te različitih mehanizama utišavanja. Primjerice, LINE2, LINE3 i DNA transpozoni su inaktivni i prisutni samo kao ostaci nekadašnjih aktivnih elemenata. Humani endogeni retrovirusi (HERV), koji pripadaju skupini LTR-retrotranspozona, također su inaktivni i čine oko 8% genoma (Bhat i sur., 2022).

3 Obrambeni mehanizmi domaćina

Budući da mobilizacija pokretnih genetičkih elemenata predstavlja prijetnju stabilnosti i integritetu genoma, njihova aktivnost u stanicama regulira se pomoću nekoliko međusobno koordiniranih mehanizama. U ljudskom genomu aktivnost transpozona regulira se pomoću metilacije molekule DNA, histonskih modifikacija i malih molekula RNA kao što su piRNA (Bhat i sur., 2022; Hsu i sur., 2021).

3.1 Metilacija molekule DNA

Metilacija molekule DNA važan je mehanizam dugoročnog utišavanja transpozona (Hsu i sur., 2021) i odgovorna je za utišavanje većine transpozona u somatskim stanicama (Bhat i sur., 2022). U sisavaca, enzimi DNA metiltransferaze (DNMT) kataliziraju prijenos metilne skupine sa S-adenozilmetionina na peti ugljikov atom citozina u molekuli DNA. Enzim DNMT1 tijekom replikacije metilira nosivac DNMT3A i DNMT3B

metiliraju DNA *de novo* (Okano i sur., 1999). Tijekom ranog embrionalnog razvoja, DNA je demetilirana (Bhat et al., 2022) pa se transpozoni mogu mobilizirati i potencijalno predstavljaju prijetnju stabilnosti genoma, stoga su potrebni drugi mehanizmi regulacije.

3.2 Modifikacije histona

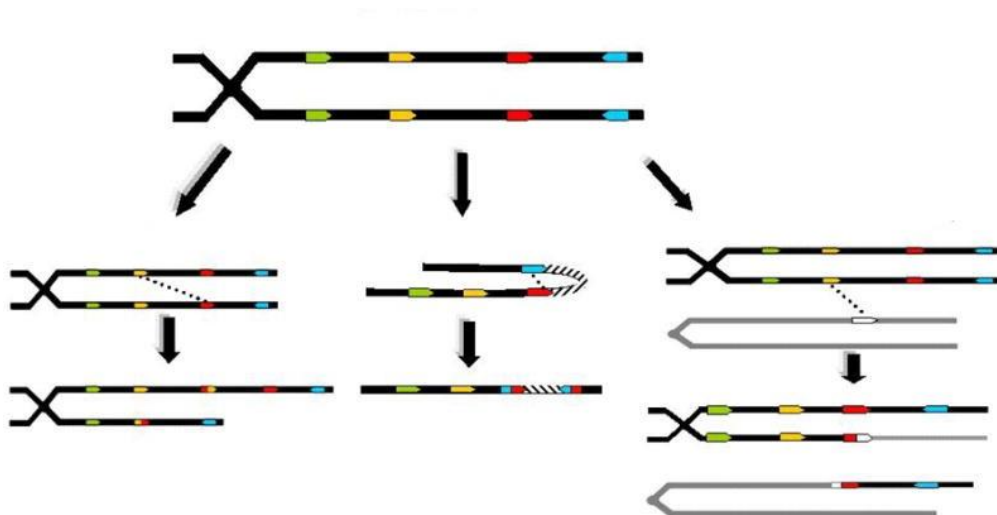
Histonske modifikacije uključuju metilaciju, acetilaciju i ubikvitinaciju (Hsu i sur., 2021). Modificirani histoni H3K9me3 i H3K27me3 sudjeluju u utišavanju transpozona kad je molekula DNA demetilirana te tako osiguravaju stabilnost genoma (Walter i sur., 2016), ali su i u interakciji s proteinima koji metiliraju molekulu DNA (Hsu et al., 2021).

3.3 Regulacija pokretnih genetičkih elemenata pomoću malih molekula RNA

Male molekule RNA ključne su za regulaciju transkripata pokretnih genetičkih elemenata, posebno tijekom embrionalnog razvoja kada dolazi do epigenetičkog reprogramiranja (Hsu i sur., 2021). Proteini PIWI i piRNA najviše su eksprimirani u stanicama zametne linije te utišavaju pokretne genetičke elemente posttranskripcijskim i transkripcijskim mehanizmima (Hsu i sur., 2021; Platt i sur., 2018). Kod prvog mehanizma primarna piRNA dovodi protein PIWI do transkripata transpozona te protein PIWI cijepa transkript, što sprječava reverznu transkripciju i umetanje transpozona u genom (**Slika 3.**). Cijepanjem transkripta nastaju sekundarne piRNA u procesu koji se naziva ping-pong ciklus (Ernst i sur., 2017). Ping-pong ciklusom povećava se broj piRNA i učinkovito smanjuje broj transkripata pokretnih genetičkih elemenata (Hsu i sur., 2021). Kod drugog mehanizma (**Slika 3.**), kompleks piRNA i proteina PIWI ulazi u jezgru i potiče metilaciju DNA *de novo* (Platt i sur., 2018).

uglavnom utječu na stabilnost genoma preko interakcija s mehanizmima za popravak dvolančanih lomova povezanim s homolognom rekombinacijom.

Kod homologne rekombinacije potrebna je neoštećena kopija DNA kao izvor informacije za popravak oštećenja. Od S-faze do mejoze mogu se kao kalup za popravak koristiti sestrinske kromatide te se one češće koriste za popravak nego homologni kromosomi. Prilikom klasičnog popravka dvolančanog loma (DSBR) homolognom rekombinacijom dolazi do sparivanja lanaca oštećene DNA s homolognim slijedom na neoštećenoj molekuli DNA koji služi kao kalup za popravak i nastaju Holidayeve strukture. Ovisno o tome kako se Holidayeve strukture razriješe, mogu nastati rekombinantni ili nerekombinantni produkti. U idealnom slučaju kao kalup za popravak služi sestrinska kromatida i ne dolazi do gubitka informacije (Hedges i Deininger, 2007). Međutim, ponavljajući slijedovi u transpozonomima mogu poremetiti popravak homolognom rekombinacijom na nekoliko načina, ovisno o lokaciji nealelnog homolognog slijeda (**Error! Reference source not found.**). Ako se dogodi rekombinacija s nealelnim homolognim slijedom na sestrinskoj kromatidi, dolazi do delecije na jednoj kromatidi i duplikacije na drugoj. U slučaju da se dogodi rekombinacija između dva slijeda na istoj kromatidi, dolazi do inverzije. Ako se rekombinacija dogodi između dva nehomologa kromosoma, dolazi do translokacije, odnosno kromosomskih rearanžmana. Rearanžmani povezani s transpozonomima često su letalni za organizam te se stoga takve mutacije rijetko mogu naći u populaciji (Hedges i Deininger, 2007).



Slika 4. Nealelna homologna rekombinacija (NAHR) može dovesti do duplikacija, delecija, inverzija i kromosomskih rearanžmana (Hedges i Deininger, 2007).

Spajanje jednolančanih krajeva (SSA) je nekonzervativni mehanizam popravka. Koristi se kad dođe do dvolančanog loma u regiji između ponavljajućih sekvenci. Prilikom popravka nastaju stršeci krajevi s izloženim ponavljanjima koja se mogu spariti te dolazi do delecije regije između ponavljanja, kao i jednog ponavljanja. Ovaj mehanizam popravka najčešće je povezan s transpozonom budući da su potrebne homologne sekvence koje se nalaze u neposrednoj blizini jedna drugoj. Mnoge manje delecije u ljudi uzrokovane su SSA mehanizmom, dok su veći rearanžmani uglavnom uzrokovani drugim mehanizmima (Hedges i Deininger, 2007).

4.2 Mutacije povezane s insercijom pokretnih genetičkih elemenata

Insercija pokretnih genetičkih elemenata na nova mjesta u genomu može uzrokovati različite mutacije, uključujući delecije, duplikacije i inverzije. Oko 0,3% mutacija *de novo* u ljudi uzrokovano je insercijom transpozona (Cordaux i Batzer, 2009). Han i sur. (2005) pokazali su da su insercije LINE-1 koje su se dogodile tijekom posljednjih 4-6 milijuna godina odgovorne za deleciju oko 18 kb ljudske DNA. S obzirom na to da je prosječna veličina elementa LINE-1 1 kb, Han i sur. (2005) izračunali su da je zbog insercije LINE-1 ljudski genom tijekom posljednjih 5 milijuna godina povećan za 1,3 Mb. Insercija elementa Alu odgovorna je za povećanje ljudskog genoma za 2,1 Mb tijekom posljednjih 6 milijuna godina. Međutim, 400 kb izgubljeno je zbog delecija posredovanih rekombinacijom elemenata Alu (ARMD). Mehanizam ARMD, kao i drugi mehanizmi delecije povezani s transpozonom, ublažava povećanje genoma uzrokovano insercijom transpozona te se tako uspostavlja ravnoteža između insercije i delecije dijelova genoma (Sen i sur., 2006).

Delecije i duplikacije posredovane insercijom LINE-1 uočene su u stanicama uzgojenim u kulturi (Gilbert i sur., 2002). Pokazano je da prilikom umetanja transpozona LINE-1 nastaju duplikacije ciljnog mjesta (TSD) koje mogu biti kraće (10-16 pb) ili dulje (39-135 pb). Nastali udvostručeni slijedovi mogu se rekombinirati, što dovodi do nestabilnosti. Delecije nastale prilikom retrotranspozicije bile su duge 2-47 pb (Gilbert i sur., 2002). Kasnije je pokazano da se delecije posredovane insercijom LINE-1 i Alu događaju i *in vivo*, ali je stopa delecije niža nego u stanicama u kulturi (Cordaux i Batzer, 2009).

4.3 Nestabilnost povezana s inverznim ponavljanjima

Istraživanja su pokazala da su parovi transpozona koji su međusobno blizu i u inverznoj orijentaciji posebno nestabilni (Stenger i sur., 2001). Tijekom replikacije molekule DNA

formiraju se sekundarne strukture spajanjem inverznih ponavljanja unutar susjednih elemenata Alu te nastaju dvolančani lomovi. Zbog velike nestabilnosti parovi inverznih elemenata Alu vrlo su rijetki u genomu (Stenger i sur., 2001). Međutim, budući da su elementi Alu aktivni u ljudskom genomu postoji potencijal za nastanak novih inverznih parova i destabilizacije genoma (Hedges i Deininger, 2007), kako u gametama, tako i u somatskim stanicama.

4.4 Utjecaj transpozona na epigenetičke regulatorne mehanizme

Kao što je već spomenuto, regije u genomu koje sadrže transpozone modificirane su različitim epigenetičkim mehanizmima. Primjerice, transpozone koji sadrže CpG mjesta prepoznaju i utišavaju enzimi DNA metiltransferaze. Osim transpozona, DNA metiltransferaze mogu metilirati i CpG mjesta u DNA oko transpozona. Metilirana CpG mjesta sklonija su demetilaciji od nemetiliranih te stoga prisutnost transpozona dovodi do smanjenja broja CpG mjesta u genomu (Zhou i sur., 2020). Veličina modificirane regije ovisi o prisutnom transpozonu. Elementi LTR i LINE-1 uzrokuju modifikaciju veće okolne regije, dok su elementi Alu preciznije regulirani (Hedges i Deininger, 2007).

4.5 Pokretni genetički elementi kao izvor mikrosatelita

Obzirom na to da su non-LTR-retrotranspozoni u velikom broju prisutni u genomu i da sadrže homopolimerne regije, mogu biti izvor mikrosatelita. Elementi Alu sadrže dvije regije koje mogu biti izvor mikrosatelita: „linker“ regiju i regiju na 3' kraju koja sadrži poli-A slijed. U tim regijama može doći do mutacija, primjerice supstitucija te delecija i insercija zbog proklizavanja DNA polimeraze tijekom replikacije (Cordaux i Batzer, 2009). Tim mutacijama nastaju mikrosateliti, koji imaju veću stopu mutacije te stoga negativno utječu na stabilnost genoma (Hedges i Deininger, 2007).

4.6 Utjecaj transpozona na ekspresiju gena

Pokretni genetički elementi koji sadrže regulatorne elemente mogu narušiti ekspresiju domaćinskih gena, ali i omogućavaju fleksibilnost u regulaciji gena u različitim tkivima ili stadijima razvoja. Utvrđeno je da neki elementi HERV imaju promotore i pojačivače koji su uključeni u regulaciju ekspresije gena u ljudi (Landry i sur., 2002). Slijedovi LTR elementa HERV-E služe kao alternativni promotori gena apoC-I i EBR te transkripcijom s tih promotora nastaju fuzijski transkripti (Medstrand i sur., 2001). Element HERV-E uključen je i u

transkripciju gena *Mid1*. Slijedovi LTR u elementu HERV-E služe kao alternativni promotor s kojeg se u placenti i bubregu embrija prepisuje *Mid1* te nastaje fuzijski transkript čiji je prvi ekson različit od eksona normalnog *Mid1* transkripta (Landry i sur., 2002).

Insercijom transpozona u introne mogu nastati nova mjesta prekrajanja, zbog čega prekrajanjem nastaju nove izoforme mRNA (Bhat i sur., 2022). Veliki broj elemenata Alu u ljudskom genomu nalazi se u intronima. Pokazano je da elementi Alu utječu na prekrajanje te mogu uzrokovati alternativno izrezivanje susjednih eksona (Lev-Maor i sur., 2008). Lev-Maor i sur. (2008) analizirali su ekson 3 gena *RABL5*, koji se alternativno izrezuje u ljudskom genomu, a konstitutivno kod primjerice miševa (*Mus musculus*), kokoši (*Gallus domesticus*) i zebrica (*Danio rerio*). Pokazali su da Alu2, koji se nalazi u intronu gena *RABL5* u ljudi u antisense orijentaciji u odnosu na ekson 3, uzrokuje izrezivanje eksona 3 iz mRNA. Mjesta prekrajanja u elementima Alu većinom su rezultat mutacija (Belancio i sur., 2006). Elementi LINE-1, s druge strane, sadrže funkcionalna mjesta prekrajanja. Analizom baze podataka EST utvrđeno je da može doći do spajanja 5' mjesta prekrajanja elementa LINE-1 i 3' mjesta prekrajanja 21 ljudskog gena (Belancio i sur., 2006). Hibridne RNA nastale takvim prekrajanjem mogu imati preuranjeni stop kodon ili se njihovom translacijom dobivaju mutirani proteini. Jedan primjer takvog proteina je estrogenski receptor (ER), kojemu nedostaje domena za vezanje hormona u slučaju kad se translacija s hibridnog transkripta nastalog povezivanjem LINE-1 i eksona ER (Belancio i sur., 2006).

4.7 Pokretni genetički elementi i bolesti

Mnoge bolesti, uključujući različite vrste raka te neurološke i druge poremećaje, povezane su s transpozonomima koji različitim mehanizmima negativno utječu na stabilnost genoma. Većina poznatih bolesti povezanih s transpozonomima uzrokovana je inaktivacijom određenog gena zbog insercije transpozona ili alternativnog prekrajanja (Hancks i Kazazian, 2016).

4.7.1 Genetički poremećaji

Veliki broj genetičkih poremećaja povezanih s insercijom transpozona, posebno LINE-1, su X-vezani poremećaji (Bhat i sur., 2022). Element LINE-1 je na X kromosomu prisutan u većem broju nego na ostalim kromosomima. Također, X-vezani poremećaji su često dominantni u muškaraca pa se češće otkrivaju. Međutim, čak i kad se uzmu u obzir navedeni faktori, ne može se u potpunosti objasniti povećani postotak X-vezanih poremećaja uzrokovanih transpozonomima

(Belancio i sur., 2008). Prva otkrivena insercija LINE-1 *de novo* bila je povezana s hemofilijom A, koja je X-vezani poremećaj (Hancks i Kazazian, 2016). Insercije elementa Alu također mogu biti povezane s X-vezanim poremećajima, primjerice s Dentovom i Menkesovom bolesti (Hancks i Kazazian, 2016). Insercija transpozona može dovesti i do stvaranja novog eksona unutar gena, odnosno eksonizacije. Insercija elementa Alu u gen GUSB dovodi do nastanka novog eksona, što uzrokuje Slyev sindrom (Chénais Biosse, 2022). Zbog insercija transpozona u introne može doći do grešaka pri prekrajanju mRNA. Takav je slučaj kod Duchennove mišićne distrofije. Insercija LINE-1 u 5' mjesto prekrajanja eksona 44 u genu DMD dovodi do preskakanja tog eksona pri prekrajanju, zbog čega nastaje nefunkcionalni protein (Payer i Burns, 2019). Mnogi genetički poremećaji uzrokovani su delecijom povezanom s rekombinacijom između različitih transpozona, posebno elementa Alu (Sen i sur., 2006). Jedan od primjera je Sandhoffova bolest, neurodegenerativni poremećaj uzrokovan delecijom oko 16 kb unutar gena HEXB zbog rekombinacije između dva Alu elementa (Neote i sur., 1990). Iako postoje i brojni drugi slučajevi, u ovom pregledu odabrano je nekoliko primjera genetičkih bolesti kako bi se pokazala raznolikost mehanizama kojima transpozoni uzrokuju fenotipske promjene.

4.7.2 Rak

Nestabilnost genoma jedno je od glavnih obilježja tumorskih stanica (Hanahan i Weinberg, 2011). Pokazano je da pokretni genetički elementi različitim mehanizmima uzrokuju nestabilnost genoma u tumorskim stanicama (Anwar i sur., 2017). Transpozoni mogu uvesti alternativne promotore u genom, čime povećavaju razinu transkripcijskog stresa te broj dvolančanih lomova (Anwar i sur., 2017). To je moguće u tumorskim stanicama jer u njima dolazi do hipometilacije, što aktivira transpozone. Alternativni promotori povezani su s različitim vrstama raka (**Tablica 1. Pokretni genetički elementi i mehanizmi povezani s rakom.**).

Osim genetičkih bolesti, rekombinacija između elemenata Alu može uzrokovati i različite vrste raka. U genima BRCA1 i BRCA2 povećana je gustoća elemenata Alu u odnosu na ostatak genoma (Chénais Biosse, 2022). Različite mutacije u tim genima (**Tablica 1. Pokretni genetički elementi i mehanizmi povezani s rakom.**) uzrokovane rekombinacijom između elemenata Alu povezane su s povećanim rizikom za rak dojke. Rekombinacija između elemenata Alu može dovesti i do duplikacija, kao što je slučaj kod gena Myb i MLL1. Rekombinacija između gena BCR na kromosomu 22 i ABL na kromosomu 9, kojom nastaje hibridni gen BCR-ABL, također

je povezana s elementima Alu. Transkripcijom tog gena nastaje hibridni protein koji uzrokuje nekontroliranu diobu stanica, što dovodi do kronične mijeloidne leukemije (Kang i sur., 2016).

U slučajevima kad su demetilirani, snažni promotori i pojačivači humanih endogenih retrovirusa mogu poremetiti regulaciju ekspresije domaćinskih gena te potaknuti ekspresiju onkogeni i faktora rasta. Elementi HERV-K također kodiraju onkoproteine. Protein Env može uzrokovati fuziju stanica, što dovodi do kromosomske nestabilnosti (Curty i sur., 2020). Transkripcijski aktivni elementi HERV povezani su s melanomima, gliomima, Hodgkinovim limfomom i drugim vrstama raka (Chénais Biosse, 2022).

Hipometilacija u stanicama raka dovodi do učestale transpozicije pokretnih genetičkih elemenata. U jednom istraživanju pokazano je da u 53% uzoraka dobivenih od pacijenata oboljelih od tumora postoji barem jedna insercija LINE-1 (Tubio i sur., 2014). Prema novijim istraživanjima, većina insercija u tumorskim stanicama odgovara elementima LINE-1, dok su Alu i SVA insercije malobrojne (Chénais Biosse, 2022).

Iako je potvrđeno da su transpozoni povezani s brojnim vrstama raka, u mnogim slučajevima nije razjašnjen točan mehanizam njihova djelovanja.

Tablica 1. Pokretni genetički elementi i mehanizmi povezani s rakom.

Pokretni genetički element	Pogođeni gen	Mehanizam	Tip raka	Izvor
Alu	B3GALT5	alternativni promotor	rak dojke	(Anwar et al., 2017)
	TMED7	alternativni promotor	rak debelog crijeva	(Anwar et al., 2017)
	BRCA1 BRCA2	insercija, duplikacija, delecija	rak dojke	(Anwar et al., 2017)
	MYB	duplikacija	T-ALL	(Chénais Biosse, 2022)
	MLL1	duplikacija	akutna mijeloidna leukemija	(Chénais Biosse, 2022)
	BCR-ABL	translokacija	kronična mijeloidna leukemija	(Kang et al., 2016)
LINE-1	FOXP2	alternativni promotor	rak jajnika	(Anwar et al., 2017)
	KDR	alternativni promotor	rak debelog crijeva	(Anwar et al., 2017)
	NPAS3	alternativni promotor	rak debelog crijeva	(Anwar et al., 2017)
	APC	insercija	rak debelog crijeva	(Hancks & Kazazian, 2016)
LTR	APOC	alternativni promotor	rak želuca	(Anwar et al., 2017)
	CYP19A1	alternativni promotor	rak dojke	(Anwar et al., 2017)
	DHRS2	alternativni promotor	rak dojke	(Anwar et al., 2017)
	EBR	alternativni promotor	rak mokraćnog mjehura	(Anwar et al., 2017)
	FABP7	alternativni promotor	limfom	(Anwar et al., 2017)

5 Zaključak

Pokretni genetički elementi sveprisutni su u ljudskom genomu te imaju raznolike uloge. Aktivni transpozoni mogu destabilizirati genom mehanizmima ovisnima o transpoziciji, ali i inaktivni elementi mogu negativno utjecati na stabilnost mehanizmima neovisnima o transpoziciji. Stoga je potrebno međudjelovanje i koordinacija različitih mehanizama utišavanja, uključujući metilaciju DNA, histonske modifikacije i male molekule RNA, kako bi se smanjio negativni učinak

transpozona na integritet i stabilnost genoma. Ako dođe do deregulacije transpozona može doći do njihove transkripcije te, u slučaju aktivnih elemenata, transpozicije, što može dovesti do različitih bolesti. Otkriven je veliki broj bolesti i poremećaja povezanih s transpozonima, uključujući mnoge vrste raka, genetičke, neurološke i druge poremećaje. Unatoč napredcima učinjenima u novijim istraživanjima, mehanizmi kojima transpozoni djeluju nisu u potpunosti poznati. Potrebna su dodatna istraživanja kako bismo razumjeli na koje načine transpozoni mogu utjecati na stabilnost genoma i pronašli potencijalne načine sprječavanja i liječenja bolesti uzrokovanih djelovanjem transpozona.

6 Literatura

- Anwar, S. L., Wulaningsih, W., & Lehmann, U. (2017). Transposable elements in human cancer: Causes and consequences of deregulation. *International Journal of Molecular Sciences* 18(5): 974. <https://doi.org/10.3390/ijms18050974>
- Ardeljan, D., Taylor, M. S., Ting, D. T., & Burns, K. H. (2017). The human long interspersed element-1 retrotransposon: An emerging biomarker of Neoplasia. *Clinical Chemistry* 63(4): 816–822. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2016.257444>
- Belancio, V. P., Hedges, D. J., & Deininger, P. (2006). LINE-1 RNA splicing and influences on mammalian gene expression. *Nucleic Acids Research* 34(5): 1512–1521. <https://doi.org/10.1093/nar/gkl027>
- Belancio, V. P., Hedges, D. J., & Deininger, P. (2008). Mammalian non-LTR retrotransposons: For better or worse, in sickness and in health. *Genome Research* 18(3): 343–358. <https://doi.org/10.1101/gr.5558208>
- Bhat, A., Ghatage, T., Bhan, S., Lahane, G. P., Dhar, A., Kumar, R., Pandita, R. K., Bhat, K. M., Ramos, K. S., & Pandita, T. K. (2022). Role of Transposable Elements in Genome Stability: Implications for Health and Disease. *International Journal of Molecular Sciences* 23(14): 7802. <https://doi.org/10.3390/ijms23147802>

- Chénais Biosse, B. (2022). Transposable Elements and Human Diseases: Mechanisms and Implication in the Response to Environmental Pollutants. *International Journal of Molecular Sciences* 23(5): 2551. <https://doi.org/10.3390/ijms>
- Cordaux, R., & Batzer, M. A. (2009). The impact of retrotransposons on human genome evolution. *Nature Reviews Genetics* 10(10): 691–703. <https://doi.org/10.1038/nrg2640>
- Curty, G., Marston, J. L., De Mulder Rougvie, M., Leal, F. E., Nixon, D. F., & Soares, M. A. (2020). Human Endogenous Retrovirus K in Cancer: A Potential Biomarker and Immunotherapeutic Target. *Viruses* 12(7): 726. <https://doi.org/10.3390/v12070726>
- Ernst, C., Odom, D. T., & Kutter, C. (2017). The emergence of piRNAs against transposon invasion to preserve mammalian genome integrity. *Nature Communications*, 8(1): 1411. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01049-7>
- Gasior, S. L., Wakeman, T. P., Xu, B., & Deininger, P. L. (2006). The Human LINE-1 Retrotransposon Creates DNA Double-strand Breaks. *Journal of Molecular Biology* 357(5): 1383–93. <https://doi.org/10.1016/j>
- Gilbert, N., Lutz-Prigge, S., & Moran, J. V. (2002). Genomic deletions created upon LINE-1 retrotransposition. *The Cell* 110(3): 315–325. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00828-0](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00828-0)
- Han, K., Sen, S. K., Wang, J., Callinan, P. A., Lee, J., Cordaux, R., Liang, P., & Batzer, M. A. (2005). Genomic rearrangements by LINE-1 insertion-mediated deletion in the human and chimpanzee lineages. *Nucleic Acids Research* 33(13): 4040–4052. <https://doi.org/10.1093/nar/gki718>
- Hanahan, D., & Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of Cancer: The Next Generation. *The Cell* 144(5): 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- Hancks, D. C., & Kazazian, H. H. (2016). Roles for retrotransposon insertions in human disease. *Mobile DNA* 7(1): 234–245. <https://doi.org/10.1186/s13100-016-0065-9>
- Hedges, D. J., & Deininger, P. L. (2007). Inviting instability: Transposable elements, double-strand breaks, and the maintenance of genome integrity. *Mutation Research - Fundamental*

and Molecular Mechanisms of Mutagenesis 616(1–2): 46–59.
<https://doi.org/10.1016/j.mrfmmm.2006.11.021>

Hsu, P. S., Yu, S. H., Tsai, Y. T., Chang, J. Y., Tsai, L. K., Ye, C. H., Song, N. Y., Yau, L. C., & Lin, S. P. (2021). More than causing (epi)genomic instability: emerging physiological implications of transposable element modulation. *Journal of Biomedical Science* 28(1): 58.
<https://doi.org/10.1186/s12929-021-00754-2>

Kang, Z. J., Liu, Y. F., Xu, L. Z., Long, Z. J., Huang, D., Yang, Y., Liu, B., Feng, J. X., Pan, Y. J., Yan, J. S., & Liu, Q. (2016). The philadelphia chromosome in leukemogenesis. *Chinese Journal of Cancer* 35(1): 48. <https://doi.org/10.1186/s40880-016-0108-0>

Kovalchuk, I. (2016). Genome Stability: An Evolutionary Perspective. U: *Genome Stability: From Virus to Human Application*. Academic Press, str. 1–18. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803309-8.00001-X>

Ku, H.-Y., & Lin, H. (2014). PIWI proteins and their interactors in piRNA biogenesis, germline development and gene expression. *National Science Review*, 1(2): 205–218.
<https://doi.org/10.1093/nsr/nwu014>

Lander, S., Linton, L. M., Birren, B., Nusbaum, C., Zody, M. C., Baldwin, J., Devon, K., Dewar, K., Doyle, M., FitzHugh, W., Funke, R., Gage, D., Harris, K., Heaford, A., Howland, J., Kann, L., Lehoczky, J., LeVine, R., McEwan, P., ... Yeh, R.-F. (2001). Initial sequencing and analysis of the human genome International Human Genome Sequencing Consortium* The Sanger Centre: Beijing Genomics Institute/Human Genome Center. *Nature* 409.
www.nature.com

Landry, J.-R., Rouhi, A., Medstrand, P., & Mager, D. L. (2002). The opitz syndrome gene Mid1 is transcribed from a human endogenous retroviral promoter. *Molecular Biology and Evolution* 19(11): 1934–1942. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.molbev.a004017>

Lev-Maor, G., Ram, O., Kim, E., Sela, N., Goren, A., Levanon, E. Y., & Ast, G. (2008). Intronic Alus influence alternative splicing. *PLoS Genetics* 4(9).
<https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000204>

- Medstrand, P., Landry, J. R., & Mager, D. L. (2001). Long terminal repeats are used as alternative promoters for the endothelin B receptor and apolipoprotein C-I genes in humans. *Journal of Biological Chemistry* 276(3): 1896–1903. <https://doi.org/10.1074/jbc.M006557200>
- Neote, K., McInnes, B., Mahuran, D. J., & Gravel, R. A. (1990). Structure and distribution of an Alu-type deletion mutation in Sandhoff disease. *Journal of Clinical Investigation* 86(5): 1524–1531. <https://doi.org/10.1172/JCI114871>
- Okano, M., Bell, D. W., Haber, D. A., & Li, E. (1999). DNA Methyltransferases Dnmt3a and Dnmt3b are essential for de novo methylation and mammalian development. *The Cell* 99(3): 247–257. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(00\)81656-6](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(00)81656-6)
- Payer, L. M., & Burns, K. H. (2019). Transposable elements in human genetic disease. *Nature Reviews Genetics* 20(12): 760–772.. <https://doi.org/10.1038/s41576-019-0165-8>
- Platt, R. N., Vandewege, M. W., & Ray, D. A. (2018). Mammalian transposable elements and their impacts on genome evolution. *Chromosome Research* 26(1–2): 25–43. <https://doi.org/10.1007/s10577-017-9570-z>
- Sen, S. K., Han, K., Wang, J., Lee, J., Wang, H., Callinan, P. A., Dyer, M., Cordaux, R., Liang, P., & Batzer, M. A. (2006). human genomic deletions mediated by recombination between Alu elements. *American Journal of Human Genetics* 79: 41–53 <https://doi.org/10.1086/504600>
- Stenger, J. E., Lobachev, K. S., Gordenin, D., Darden, T. A., Jurka, J., & Resnick, M. A. (2001). Biased distribution of inverted and direct Alus in the human genome: Implications for insertion, exclusion, and genome stability. *Genome Research* 11(1): 12–27. <https://doi.org/10.1101/gr.158801>
- Tubio, J. M. C., Li, Y., Ju, Y. S., Martincorena, I., Cooke, S. L., Tojo, M., Gundem, G., Pipinikas, C. P., Zamora, J., Raine, K., Menzies, A., Roman-Garcia, P., Fullam, A., Gerstung, M., Shlien, A., Tarpey, P. S., Papaemmanuil, E., Knappskog, S., Van Loo, P., ... Campbell, P. J. (2014). Extensive transduction of nonrepetitive DNA mediated by L1 retrotransposition in cancer genomes. *Science* 345(6196): 1251343. <https://doi.org/10.1126/science.1251343>

Walter, M., Teissandier, A., Pérez-Palacios, R., & Bourc'His, D. (2016). An epigenetic switch ensures transposon repression upon dynamic loss of DNA methylation in embryonic stem cells. *ELife* 5. <https://doi.org/10.7554/eLife.11418.001>

Zhou, W., Liang, G., Molloy, P. L., & Jones, P. A. (2020). DNA methylation enables transposable element-driven genome expansion. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 117(32): 19359–19366. <https://doi.org/10.1073/pnas.1921719117>

7 Životopis

Iris Bertoneclj rođena je u Zagrebu 27. rujna 2001. godine. Završila je II. gimnaziju u Zagrebu. Tijekom srednjoškolskog obrazovanja dva je puta sudjelovala na državnom Natjecanju iz engleskoga jezika gdje je 2020. godine osvojila drugo mjesto. 2020. godine upisuje preddiplomski studij Molekularne biologije na Prirodoslovno-matematičkom fakultetu u Zagrebu. Tijekom studija sudjelovala je na Danu karijera na PMF-u 2021. kao volonter. Od 2021. godine aktivna je članica Udruge studenata biologije – BIUS te je od 2021. do 2023. godine vodila Sekciju za kornjaše. Tijekom akademske godine 2022./2023. odradila je laboratorijsku stručnu praksu u laboratoriju Hrvatskog prirodoslovnog muzeja. Posjeduje međunarodni certifikat iz engleskog jezika razine C1. Uz studij pohađa tečaj francuskog jezika u Francuskoj alijansi Zagreb.