





### Mobilom człowieka

1. **Czym są transpozony?**
  - Definicja
  - Występowanie w genomie Eukariota
  - Klasa I: retrotranspozony
  - Klasa II: transpozony DNA
2. **Transpozony człowieka**
  - Retrotranspozony
  - Transpozony DNA
3. **Rola transpozonów**
  - Ewolucja człowieka: mózg i system immunologiczny
  - Retrogeny
  - Aktywne transpozony
  - Funkcje regulatorowe



The photograph shows a person's hands holding a large gel electrophoresis image. The image displays a complex pattern of dark bands on a light background, characteristic of a DNA fingerprint. The person is wearing a blue shirt. The background of the photo is slightly blurred, showing some greenery.



## 1. Czym są transpozony? Definicja

**Transpozony: ruchome elementy genetyczne, które są zdolne do zmiany pozycji w genomie.**

### Odkrycie „skaczących genów”

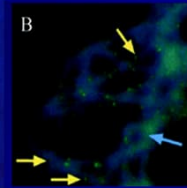
- Przez większość XX w. uważano, że geny zajmują stałe miejsce w chromosomie.
- 1947-48, B. McClintock: pierwsze elementy ruchome u *Z. mays*, *Ac* i *Ds*.
- 1950, B. McClintock: opis elementu *Spm*.
- 1970: wykrycie transpozonów u bakterii.
- 1980: klonowanie elementów *Ac* i *Ds*.
- 1983: Nagroda Nobla dla Barbary McClintock.



Mozaikowość jako wynik wycięcia transpozonu.



„They can appear at new locations and disappear from previously determined locations.”  
Barbara McClintock, 1956



Jasne punkty wskazują miejsca transpozonów.

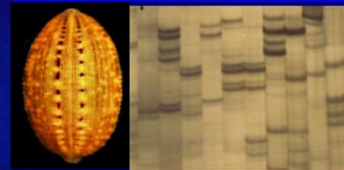
**Hemofilia typu B u człowieka jest efektem insercji transpozonu *Alu* do genu kodującego czynnik IX.**



## 1. Czym są transpozony? Występowanie

**Transpozony występują powszechnie u większości gatunków. W miejscu insercji transpozonów występują krótkie powtórzenia.**

Gatunek	Transpozony [%]
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	3
<i>Caenorhabditis elegans</i>	12
<i>Drosophila melanogaster</i>	16
<i>Arabidopsis thaliana</i>	35
<i>Lotus japonicus</i>	57
<i>Hordeum vulgare</i>	55
<i>Zea mays</i>	80
<i>Triticum urartu</i> (2n)	50
<i>Mus musculus</i>	40
<i>Homo sapiens</i>	55



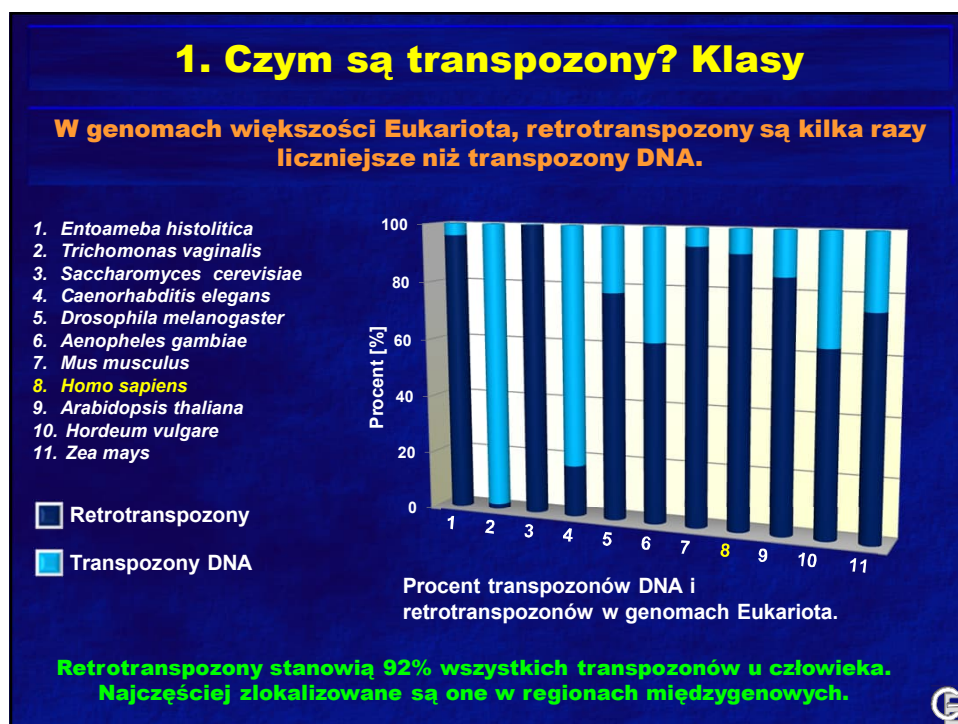
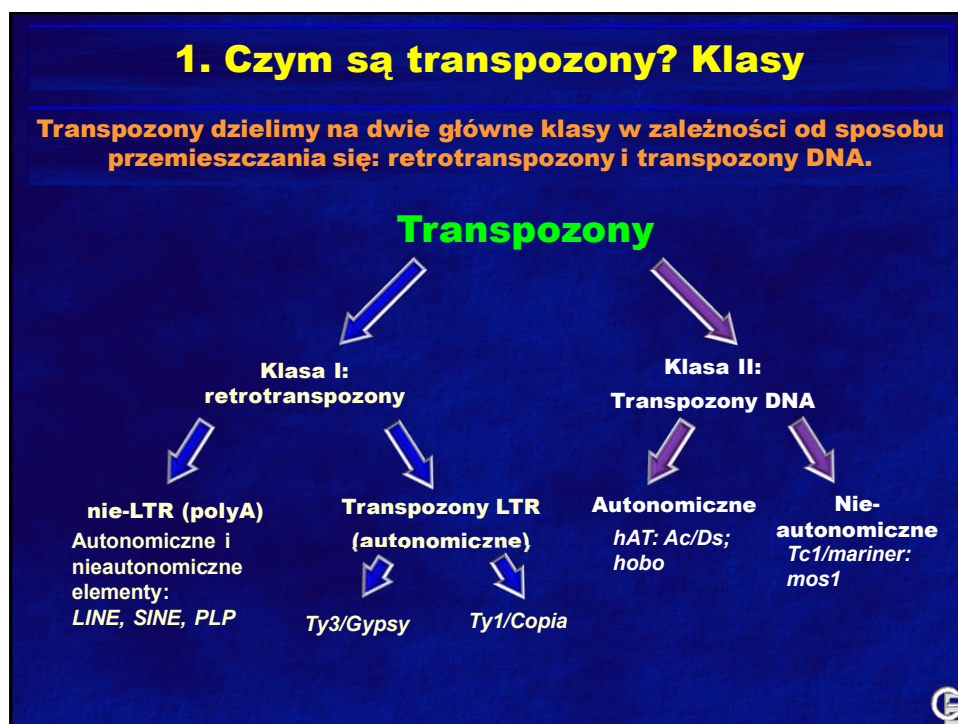
Miejsca insercji retrotranspozonów w genomie pijawek (*Glossiphonia*).



Miejsca insercji transpozonów w genomie wątrobowców (*Pellia*).

**Nina Fedoroff: „transposons constitute more than 65% of our genomes and 85% of the maize genome. They comprise a majority of the DNA in many species”.**





## 1. Czym są transpozony? Klasa I

**Klasa I: retrotranspozony przemieszczają się za pośrednictwem RNA, za pomocą mechanizmu zwanego „kopiuj i wklej”.**

**Klasa I: retrotranspozony**

- 1. Retrotranspozony są transkrybowane na mRNA.
- 2. mRNA jest przepisywane na cDNA za pomocą odwrotnej transkryptazy:
  - elementy autonomiczne mają własną odwrotną transkryptazę;
  - elementy nieautonomiczne wykorzystują odwrotną transkryptazę kodowaną przez inne elementy.
- Podczas odwrotnej transkrypcji komórkowy mRNA może być przypadkowo „porwany”.
- 3. Integracja cDNA w nowym miejscu, stara kopia pozostaje.
- Mechanizm „kopiuj i wklej” prowadzi do znacznego wzrostu liczby kopii retrotranspozonów w genomie.

Klasa I: kopiuj i wklej, retrotranspozony

Ogólny mechanizm transpozycji retrotranspozonów.

## 1. Czym są transpozony? Klasa I

**Autonomiczne retrotranspozony: LTR i nie-LTR posiadają odwrotną transkryptazę (RT), nie-autonomicznie jej nie posiadają.**

**U3 R U5 gag prot endo RT RNA-ase H U5 R U3**

**LTR: autonomiczny, na końcu są powtórzenia terminalne, wykazuje podobieństwo struktury i mechanizmu transpozycji do retrowirusów.**

**LINE-1: autonomiczny, nie-LTR, odwrotna transkrypcja przy pomocy „target primed reverse transcription - TPRT.**

**SINE: nieautonomiczny, nie-LTR, wykorzystuje LINE i TPRT.**

- > LTR: długie powtórzenia terminalne (100 – 5 000 bp)
- > U3 region: promotor
- > gag: białka nukleokapsydu
- > prot: proteaza
- > endo: integraza
- > RT: odwrotna transkryptaza

- > RBP: białko wiążące się z RNA
- > EN: endonukleaza
- > RT: odwrotna transkryptaza

- > Alu-like: odwrócony element Alu
- > VNTR: zmienna liczba tandemowych powtórzeń

**Mobilizacja nieautonomicznych retrotranspozonów zależy od białek kodowanych przez elementy autonomiczne, np. ORF1 and ORF2 in LINE.**

Wangi Kunze 2016

## 1. Czym są transpozony? Klasa I

**Odwrotna transkrypcja to przepisanie RNA na DNA za pomocą enzymu zwanego odwrotną transkryptazą.**

### Historia

- Enzym katalizujący reakcję został niezależnie odkryty w 1970 r. przez:
  - Howarda Temin w wirionach wirusa wywołujących mięsaka Rousa;
  - Dawida Baltimore w wirusach mysiej białaczki.
- Odwrotna transkrypcja jest uważana za istotny proces biologiczny o znaczeniu ewolucyjnym.
- 1980-1984: proces odwrotnej transkrypcji jest powszechny w komórkach organizmów.

### Reverse Transcription in the Eukaryotic Genome: Retroviruses, Pararetroviruses, Retrotransposons, and Retrotranscripts<sup>1</sup>

Howard M. Temin  
University of Wisconsin-Madison

Recent studies indicate that >10% of the human and mouse genomes consist of integrated DNA copies of RNA molecules. These sequences represent retroviral, retroviral-like DNA, retrotransposons, and retrotranscripts. More than 300,000 separate integration events. The nature of the sites for the reverse transcription from RNA to DNA and the integrated DNA copies into chromosomal DNA is unknown. A major evolutionary force would have been mutation. Thus, present-day organisms that survived this mutational load.

#### Introduction

Reverse transcription was first discovered as a key step in the replication of animal viruses now called retroviruses. Although it was suggested as a general transcription is an important general biological process (Temin 1973), evidence supporting this hypothesis has only recently been obtained.



H.M. Temin, 1985: znaczna część genomu kręgowców powstała w wyniku odwrotnej transkrypcji i integracji cDNA. Istnieje hipoteza, że DNA powstało w wyniku odwrotnej transkrypcji pierwotnego RNA. Wskazują na to:

- podobieństwo ekspresji genów w różnych lokalizacjach;
- proste powtórzenia w DNA, w tym polyA;
- wycinanie intronów.

**Odwrotna transkrypcja występuje u retrowirusów, ale także u Eukariota umożliwiając przemieszczanie się endogennych retrotranspozonów. Wykorzystana jest także w biologii molekularnej.**

Temin 1985

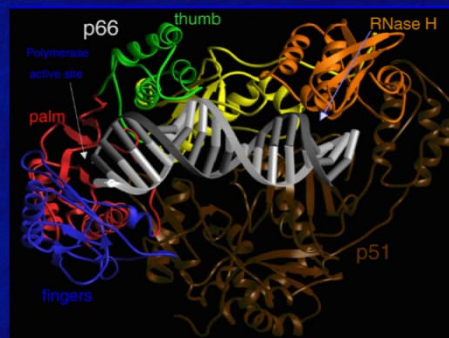


## 1. Czym są transpozony? Klasa I

**Odwrotna transkryptaza (RT): enzym z grupy polimeraz DNA zależnych od RNA, zdolna do rozpoznawania RNA.**

### Struktura na przykładzie HIV-1

- Produkt genu *Gag-Pol*.
- Asymetryczny heterodimer, p66: 560 aa, p51: 440 aa.
- p66 zawiera centrum aktywne dla polimerazy i RNazy H.
- p51 pełni funkcję strukturalną.
- Miejsce przyłączenia kwasu nukleinowego jest tak skonfigurowane, że kwas nukleinowy kontaktuje się z domeną polimerazy i RNazy H.
- Nie posiada właściwości korektorskich.



Struktura przestrzenna RT. Centrum aktywne polimerazy jest pokazane na granatowo, centrum RNazy na pomarańczowo. Kolor biały to matryca RNA, szary to pierwsza nić DNA.

**Odwrotna transkryptaza należy do nadrodziny DNA/RNA polimeraz, która obejmuje polimerazę DNA I, odwrotną transkryptazę, T7 polimerazę RNA.**

Sarafianos i inni 2009



## 1. Czym są transpozony? Klasa I

**Odwrotna transkryptaza, jak wszystkie polimerazy DNA, nie ma zdolności rozpoczynania syntezy nici DNA *de novo*.**

- U transpozonów LTR funkcje starterów pełnią endogenne tRNA.
- Startery przyłączane są do miejsca PBS matrycy RNA (primer binding site), które jest komplementarne do odpowiedniego tRNA.
- Odwrotna transkryptaza przyłącza dNTP z zachowaniem kierunku 5'→3'.
- W warunkach *in vitro* (np. RT-PCR) starterem może być fragment DNA, np. oligo dT.

Kompleks enzym/starter/DNA. Utworzenie wiązania fosfodiesterowego między nukleotydami wymaga obecności jonów  $Mg^{2+}$ , które ułatwia atak grupy 3'OH na grupę 5OH przyłączanego nukleotydu i stabilizują ładunek (czarne linie pokazują chelatację).

**Funkcję starterów w odwrotnej transkrypcji może pełnić transportowy RNA (tRNA) znajdujący się w komórce.**

Sarafianos i inni 2009

## 1. Czym są transpozony? Klasa I

**Ludzka polimeraza  $\theta$ , która uczestniczy w naprawie DNA wykazuje aktywność odwrotnej transkryptazy.**

**Polimeraza  $\theta$  jako odwrotna transkryptaza**

- W obecności matrycy DNA powoduje powstawanie licznych błędów, w tym wstawia NTPs zamiast dNTP.
- Większa dokładność i szybkość wstawiania dNTPs jeżeli matrycą jest RNA.
- W obecności matrycy RNA dochodzi do transformacji przestrzennej, która prowadzi do tworzenia wiązań wodorowych z grupą OH w pozycji 2' rybozy.
- Promuje naprawę DNA na matrycy RNA.

Domena RT, nieaktywna w obecności matrycy DNA

Efektywność inkorporacji dNTPs przez polimerazę  $\theta$  w zależności od matrycy.

**Polimeraza  $\theta$  jest aktywna głównie w komórkach nowotworowych, zwiększa odporność na genotoksyczne efekty terapii.**

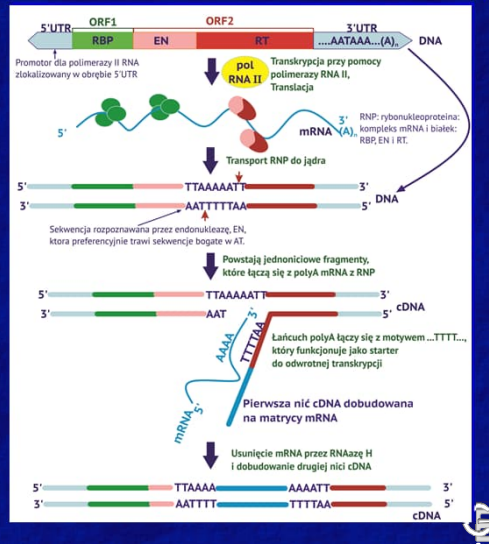
Chandramouly i inni 2021

## 1. Czym są transpozony? Klasa I

Retrotranspozony nie-LTR przemieszczają się przy pomocy celowanej odwrotnej transkrypcji (Target-primed reverse transcription, TPRT).

### Mechanizm TPRT

- Retrotransponon nie-LTR jest transkrybowany przy pomocy polimerazy RNA II.
- Po translacji białek RBP, EN i RT powstaje w cytoplazmie kompleks rybonukleoproteinowy (RNP), który jest transportowany do jądra.
- Endonukleaza przecina sekwencje DNA w obrębie transpozonu bogate w AT i tworzy jednoniciowe fragmenty.
- Łańcuch polyA mRNA łączy się z DNA i działa jak starter dla odwrotnej transkryptazy.
- RNA jest trawione przy pomocy RNAazy H i druga nić cDNA jest syntetyzowana.

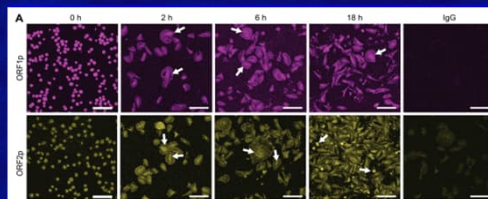


## 1. Czym są transpozony? Klasa I

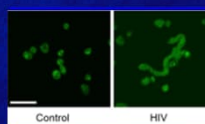
Odwrotna transkryptaza pochodzenia *LINE-1* jest aktywna w ludzkich trombocytach i reguluje ich aktywność.

### Kontrola translacji przez odwrotną transkryptazę w trombocytach

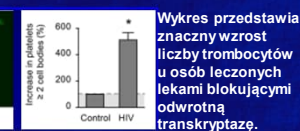
- Syntetyzuje hybrydy RNA/DNA, które blokują translację przez wykorzystanie części mRNA w odwrotnej transkrypcji.
- Hybrydy RNA/DNA indukują syntezę regulatorowych cząsteczek dsRNA, które z kolei indukują translację białek związanych z tworzeniem potomnych trombocytów.
- Aktywność odwrotnej transkryptazy w trombocytach pochodzi z rybonukleinowych (RNP) cząstek *LINE-1*.



Aktywność białek kodowanych przez ORF1 (góra) i ORF2 (dół) w trombocytach w zależności od czasu. Białe strzałki pokazują wzrost ilości białek pochodzenia *LINE-1* w obszarze centralnym. IgG: kontrola.



Trombocyty osób zdrowych (control) oraz zakażonych HIV i leczonych lekami blokującymi odwrotną transkryptazę (HIV).



Wykres przedstawia znaczny wzrost liczby trombocytów u osób leczonych lekami blokującymi odwrotną transkryptazę.

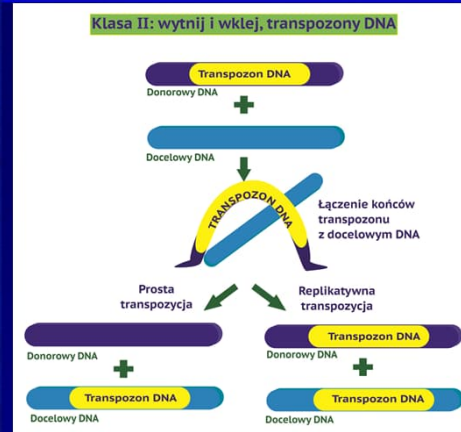
Leki przeciwwirusowe blokujące odwrotną transkryptazę mogą prowadzić do aterosklerozy oraz nadmiernej aktywacji czynników krzepnięcia krwi.

## 1. Czym są transpozony? Klasa II

**Klasa II: Transpozony DNA należące do kilku rodzin. Na ogół przemieszczają się poprzez mechanizm „wytnij i wklej”.**

### Mechanizm mobilizacji transpozonów DNA

- Końce transpozonu DNA łączą się z docelowym fragmentem DNA.
- Transpozon jest wycinany z miejsca donorowego.
- Reintegracja wyciętego transpozonu do miejsca docelowego:
  - prosta transpozycja: końce miejsca docelowego są łączone bez zachowania homologii (NEJ).
  - transpozycja replikatywna: luka jest naprawiana z zachowaniem homologii na bazie chromosomu homologicznego, np. *Helitron*.



**Transpozony DNA na ogół nie zwiększają istotnie rozmiarów genomu.**



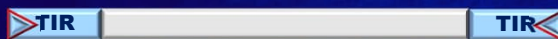
## 1. Czym są transpozony? Klasa II

**Autonomiczne transpozony DNA kodują transpozazę (TPaza) oraz dodatkowe białko niezbędne do transpozycji.**



**Autonomiczny transpozon DNA:** transpozaza łączy się z odwróconymi powtórzeniami (TIR) i katalizuje wycięcie DNA oraz późniejszą ligację w miejscu docelowym. ORF2 jest kontrolowany przez oddzielny promotor lub pochodzi z alternatywnego splicingu.

- TIR: odwrócone terminalne powtórzenia
- TPase: transpozaza
- ORF2: dodatkowe białko niezbędne do transpozycji



**Nieautonomiczny transpozon DNA:** TPaza łączy transpozon autonomiczny i nieautonomiczny oraz docelowe DNA. Powstały nukleoproteinowy kompleks to transposome. TPaza inicjuje wycięcie nieautonomicznego elementu przez trawienie nukleotydów przed końcem 5' transpozonu i utworzenie jednoniciowych fragmentów.

**Nieautonomiczne transpozony DNA nie posiadają funkcjonalnego genu transpozazy ale mogą być mobilizowane przez transpozazę innych elementów (tzw. mobilizacja *trans*).**

Wangand Kunze 2015



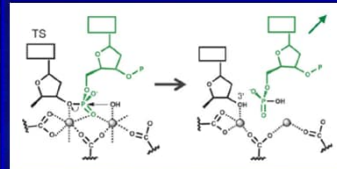
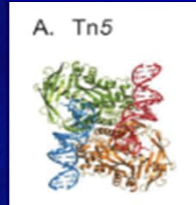


## 1. Czym są transpozony? Klasa II

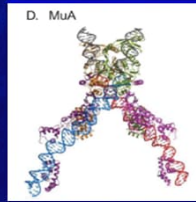
**Transpozaza: enzym, który przyłącza się do końców transpozonu i katalizuje jego przemieszczanie.**

### Cechy strukturalne

- Wykorzystują cztery typy domen katalitycznych:
  - RNazy H (DDE) z trzema specyficznymi aminokwasami w centrum aktywnym (*Tn5*, *Mu1*);
  - HUH, działa na ssDNA (*Helitron*);
  - serynowa;
  - tyrozynowa.
- Wszystkie domeny obecne są także w innych enzymach, np. rekombinaza, integraza, inwertaza.



Przykłady transpozazy z domeną typu RNazy H. W centrum aktywnym są zawsze trzy aminokwasy DDE (D: kwas asparaginy, E: kwas glutaminowy) lub DDD, które koordynują jony  $Mg^{2+}$  w celu aktywacji cząsteczek wody lub grupy 3'OH i nukleolitycznego ataku na wiązanie fosfodiesterowe. Podobne miejsce aktywne występuje w podjednostce polimerazy I *E. coli* (fragment Klenowa) o aktywności egzonukleolitycznej w kierunku 3'-5'.



**Transpozazy posiadają domenę nukleazy, która katalizuje przerwanie nici DNA oraz ponowne połączenie w nowym miejscu.**

Hickman i Dydą 2016

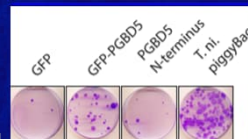


## 1. Czym są transpozony? Klasa II

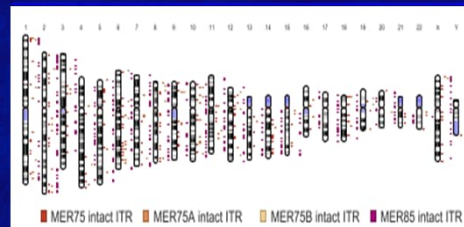
**U człowieka pełnej długości aktywna transpozaza z domeną RNazy H jest kodowana przez *PGBD5* transpozon typu *piggyBac*.**

### Transpozaza *PGBD5*

- Wycięcie jest precyzyjne, insercja preferencyjnie w miejscach TTAA.
- Aktywność w komórkach ludzkich *in vitro* potwierdzona insercją genu reporterowego.
- Transpozycję stwierdzono na wszystkich chromosomach.
- Aktywność uzależniona od obecności triady DDD, struktura domeny różni się od innych transpozonów typu *piggyBac*.
- Prawdopodobnie uczestniczy w somatycznej transpozycji w komórkach nerwowych prowadząc do zróżnicowania genomu.



Kolonie HEK293 transfekowane *PGBD5* z genem reporterowym. Różowe zabarwienie świadczy o integracji. GFP - kontrola.



Punktami zaznaczono lokalizację transpozonów DNA, *piggyBac* w chromosomach człowieka.

**Ekspresja *PGBD5* jest ograniczona do komórek embrjonalnych oraz niektórych komórek w mózgu embrionów i osób dorosłych.**

Henssen i inni 2015.



## Mobilom człowieka

1. Czym są transpozony?
  - Definicja
  - Występowanie w genomie Eukariota
  - Klasa I
  - Klasa II
2. **Transpozony człowieka**
  - Retrotranspozony
  - Transpozony DNA
3. Rola transpozonów
  - Ewolucja człowieka: mózg i system immunologiczny
  - Retrogeny
  - Aktywne transpozony
  - Funkcje regulatorowe

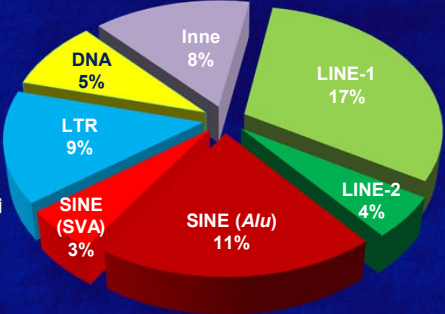


## 2. Transpozony człowieka

**Więcej niż połowa ludzkiego DNA (55-60%) zawiera transpozony. Należą one do prawie wszystkich rodzin transpozonów Eukariota.**


**Występowanie transpozonów w genomie człowieka**

- **LINE - 21% genomu:**
  - **LINE-1:** najliczniejsze, > 500 000 kopii;
  - **LINE-2:** prekursorzy miRNA.
- **SINE - 14% genomu:**
  - **Alu:** pojawiły się w okresie radiacji naczelnych;
  - **SVA** - typowe dla hominidów, 2 800 kopii w genomie człowieka.
- **LTR - 9%,** głównie sekwencje **ERV**.
- **Transpozony DNA - 5%;** kilka rodzin: **MITE, piggyBac, Merlin, Mutator**.



Typy elementów ruchomych w genomie człowieka na podstawie Replibase.

**Podobnie jak u większości Eukariota, genom ludzki odzwierciedla ewolucyjną historię aktywności transpozonów.**



## 2. Transpozony człowieka: LTR

Najliczniejszą grupą transpozonów LTR u człowieka są retrotranspozony *ERV* (*Endogenous RetroViruses*).

### Transpozony LTR

- Kilka rodzin *ERV* o różnym pochodzeniu:
  - *ERV1* podobne do Gamma i Epsilonretrowirusów;
  - *ERV2* podobne do Betaretrowirusów;
  - *ERV3*: nieznanego pochodzenia, nie pochodzą od wirusów, prawdopodobnie wyewoluowały w ludzkim genomie.
- Niektóre dane wskazują, że *ERV* mogły dać początek współczesnym retrowirusom poprzez „ucieczkę z komórki”.

Nadrodzina	Grupa (przykłady)
<i>ERV1</i>	MLLV (HERVS71) HERW9 (HERV17, HERV9) MER50like (MER50I, MER71) HEPSI (MER651, PRIMA_4) HUERSP (HUERS-P1)
<i>ERV2</i>	HML1 – HML10 (HERVK)
<i>ERV3</i>	HERVL (ERVL) HERVS MaLR (MLT-int, THE1_I)
<i>Gypsy</i>	MamGyp-int

Retrotranspozony LTR syntetyzują cDNA w cytoplazmie, następnie cDNA jest transportowane do jądra, gdzie integraza katalizuje włączenie do DNA.

Hancock i Kazazian, 2016; Kojima 2018



## 2. Transpozony człowieka: nie-LTR

Ludzkie retrotranspozony pozbawione długich terminalnych powtórzeń (LTR) należą do retrotranspozonów nie-LTR.

### Retrotranspozony nie-LTR

- Posiadają gen dla endonukleazy podobny do endonukleazy apurynowej (APE) i restrykcyjnej (RLE).
- Przemieszczają się poprzez TPRT, głównie w jądrze.
- Klasyfikuje się je w 32 kładach:
  - *LINE*: long interspersed elements;
  - *SINE*: short interspersed elements, 50-500 bp;
  - *SVA*: composite retrotranspon.

Klasa	Kład (przykłady)
<i>LINE</i>	L1 (L1, L1HS), CR1 (CR1L, CR1_HS), L2, Crack, RTR, R4, Vingi, Tx1 (MARE6), Penelope (UCON13)
<i>SINE</i>	SINE1/7SL (Alu, AluY, AluYa1) SINE2/tRNA (MIR, MIR3, MIRb) SINE3/5S rRNA (AmnSINE1) Unclassified (MER131)
Composite (SINE-VNTR-Alu)	SVA (SVA2, SVA_A... SVA_F)

Tylko transpozony *LINE* są autonomiczne. Przemieszczenie się *SINE* i *SVA* wymaga obecności autonomicznego transpozonu *LINE*.

Kojima 2018



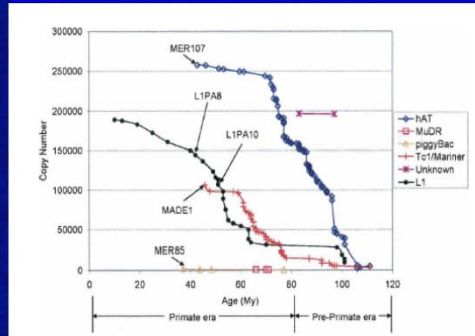
## 2. Transpozony człowieka: transpozony DNA

Najliczniejsze grupy transpozonów DNA w ludzkim genomie to przedstawiciele dwóch nadrodzin, *hAT* i *Mariner*.

### Transpozony DNA

- Co najmniej 40 rodzin było aktywnych w trakcie radiacji naczelnych.
- Wiele transpozonów DNA jest osadzona w *LINE1* i *Alu*.
- Wycięcie jest nieprecyzyjne, pozostaje kilka terminalnych nukleotydów w miejscu wycięcia.
- Niektóre ludzkie geny pochodzą od transpozonów DNA:
  - *rag1* i *rag2* odpowiadają za rekombinację, pochodzą od *Transib*.
  - *SETMAR* – pochodzi od *Mariner*, odpowiada za naprawę DNA.

Aktywność transpozonów DNA sukcesywnie spadała w trakcie ewolucji naczelnych. Transpozony DNA nie są obecnie aktywne u człowieka.



Aktywność transpozonów DNA w trakcie ewolucji naczelnych. Nadrodzina hAT była najbardziej aktywna między 100-80 mln lat temu, w czasie ery „przed-naczelnych”. Tc1/Mariner był aktywny 78-60 mln lat temu na początku ery naczelnych.

Pace II JK, Feschotte 2007; Kojima 2018



## Mobilom człowieka

### 1. Czym są transpozony?

- Definicja
- Występowanie w genomie Eukariota
- Klasa I
- Klasa II

### 2. Transpozony człowieka

- Retrotranspozony
- Transpozony DNA

### 3. Rola transpozonów

- Ewolucja człowieka: mózg i system immunologiczny
- Retrogeny
- Aktywne transpozony
- Funkcje regulatorowe



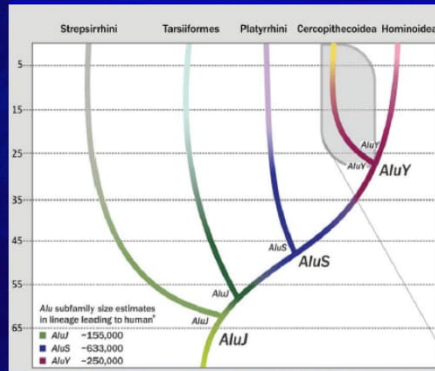
### 3. Rola transpozonów: ewolucja

Transpozony są siłą napędową ewolucji przez generowanie zmienności i dostarczanie materiału do różnicowania.

Transpozony indukują zmiany w genomie przez:

- wpływ na rekombinację homologiczną;
- zróżnicowanie na skutek mutagenyzy insercyjnej;
- zwiększenie rozmiarów genomu i jego różnicowanie;
- wpływ na tasowanie egzonów;
- remobilizację w odpowiedzi na warunki środowiskowe, w tym stres.

Unikalne dla genomów naczelnych są elementy *Alu*, które były aktywne w trakcie ich ewolucji.



Ewolucja nadrodziny *Alu* u naczelnych. Większość nadrodzin była aktywna w czasie dywergencji, ewolucja trwała po oddzieleniu się danej linii (Konkel i inni 2010).

Insercja transpozonu do genu może prowadzić do upośledzenia jego funkcji, dlatego transpozony koewoluowały z mechanizmami zapobiegającymi nadmiernej ich mobilizacji.



### 3. Rola transpozonów: ewolucja, mózg

Szybki rozwój mózgu człowieka, który rozpoczął się 3 mln lat temu był skorelowany z remobilizacją retrotranspozonu *Alu*.

- Liczba elementów *Alu* z mutacją jest >5 razy większa (~5000) niż elementów bez mutacji (~650), co świadczy o niedawnej aktywności.
- Najwyższa aktywność *Alu* wystąpiła 1,5 mln lat temu, a więc w okresie gwałtownego rozwoju mózgu.
- U człowieka jest 12 nowych elementów *Alu*, podczas gdy u szympansa tylko 5.
- W intronach genu mikrocefaliny jest 1000 elementów *Alu*, co stanowi 57% długości genu.



Transpozon *Alu* o długości 300 bp. Monomery zawierają gen 7SL RNA, promotor polimerazy RNA III. Wykorzystują odwrotną transkryptazę i endonukleazę z elementów *L1 (LINE)* do mobilizacji.



Struktura przestrzenna mikrocefaliny kodowanej przez gen *MCPH1* na chr. 8. Odpowiada ona za rozwój mózgu w okresie płodowym. Pierwotna forma genu skorelowana jest z rozwojem języków tonalnych.

Remobilizacja transpozonów *Alu* pod wpływem szybkich zmian klimatycznych około 1,5-1 mln lat temu była przyczyną szybkiego rozwoju mózgu u przodków człowieka współczesnego.

Britten 2010.

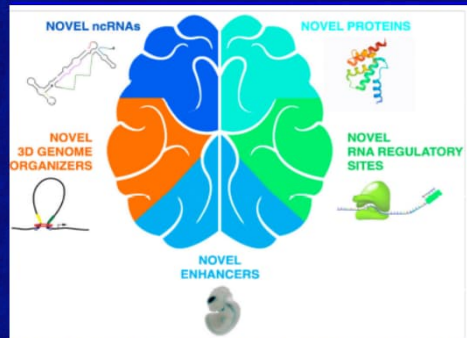


### 3. Rola transpozonów: ewolucja, mózg

Nowe cechy związane z aktywnością transpozonów były kluczowe dla rozwoju morfologii i fizjologii mózgu typowych dla człowieka.

Loci *ERV* są istotne w rozwoju ludzkiego mózgu

- **HERVK**: różnicowanie neuronów i neurotransmisja;
- **MER41**: związany z funkcjami kognitywnymi;
- **HERV-I (Xq24)**: rozwój centralnego systemu nerwowego;
- **NRIF (Ty3/Gypsy)**: apoptoza neuronów, współdziała z receptorem neurotroficznym p75;
- **ArC (Ty3/Gypsy)**: komunikacja międzykomórkowa, plastyczność układu nerwowego.



Rola transpozonów w rozwoju nowych cech mózgu: źródło nowych ncRNA, źródło nowych białek, nowych miejsc regulatorowych na skutek egzoniifikacji transpozonów (mRNA z zakotwiczonym TE), nowe miejsca wiązania czynników transkrypcyjnych, organizacja przestrzenna genomu.

Unikalna zdolność retrotranspozonów do konwersji RNA na DNA dostarcza nowych sekwencji kodujących białka oraz elementy regulatorowe, które promują innowacje na poziomie genomu i organizmu.

Ferrari i inni 2021

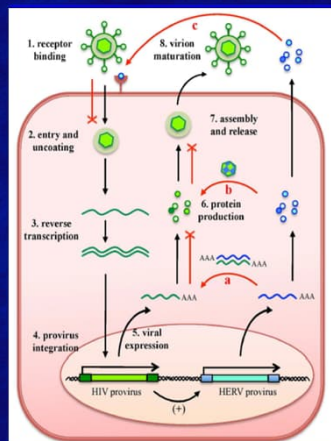


### 3. Rola transpozonów: s. immunologiczny

Niektóre retrotranspozony uczestniczą w ochronie przeciwwirusowej przez blokowanie receptorów, białek lub RNA.

Interferencja między HIV i elementami *HERV-K*

- **A.** *HERV* wytwarza transkrypt, który jest antysensowny do RNA pochodzącego z HIV.
- **B.** Białka *HERV-K* są podobne do białek HIV. Zapobiegają infekcji przez komplementarną interakcję z białkami HIV: białko gag z *HERV* (CA) blokuje białko gag z HIV.
- **C.** Białka *HERV-K* blokują receptory komórkowe rozpoznawane przez HIV.



Rola *HERV-K* w ochronie antywirusowej. Reakcja między RNA pochodzącego z HIV i *HERV-K* prowadzi do powstania dsRNA, który indukuje odpowiedź komórkową. Podobną reakcję wywołuje krótszy element *HERV-F*: supresyna.

Infekcja egzogennymi wirusami, w tym HIV, wirusami Herpes, wirusami grypy prowadzi do zmiany ekspresji elementów *HERV*.

Grandi i Tramontano, 2018

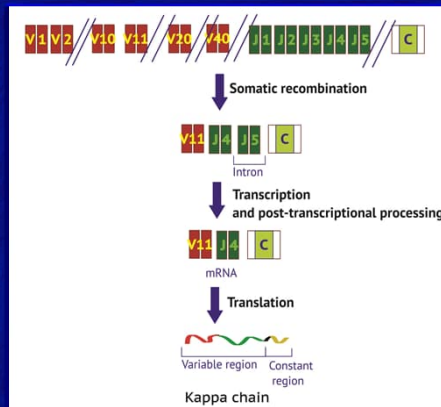


### 3. Rola transpozonów: s. immunologiczny

Odpowiedź immunologiczna adaptacyjna kręgowców opiera się na systemie V(D)J, który generuje znaczną różnorodność przeciwciał.

Odpowiedź adaptacyjna (swoista) u człowieka

- Każde przeciwciało składa się z 2 łańcuchów ciężkich i 2 lekkich.
- Każdy łańcuch składa się z części zmiennej (V), regionu łączącego (J) oraz regionu stałego (C).
- Geny kodujące dane przeciwciała są składane podczas dojrzewania limfocytów B.
- Segment V jest łączony z regionem J i C w wyniku rekombinacji somatycznej.
- Wszystkie segmenty pomiędzy połączonymi regionami stają się intronami.



Składanie genów kodujących lekkie łańcuchy kappa przeciwciał podczas dojrzewania limfocytów B..

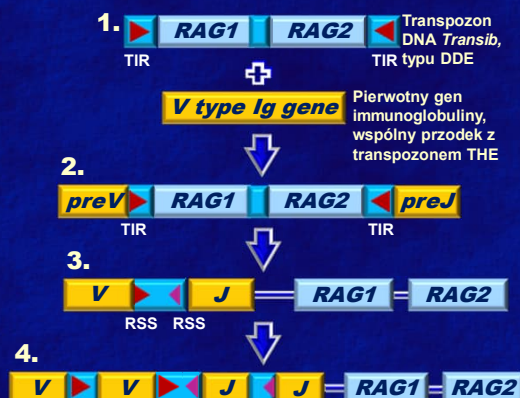
Rekombinacja niezbędna do składania genów kodujących receptory przeciwciała jest kontrolowana przez Gen Aktywujący Rekombinację (RAG).

### 3. Rola transpozonów: s. immunologiczny

Gen *RAG1* koduje aktywną enzymatycznie podjednostkę, *RAG2* – podjednostkę regulatorową. Obie tworzą kompleks rekombinazy.

Ewolucja odpowiedzi adaptacyjnej u człowieka

1. Blok genów *RAG1-RAG2* był obecny w genomie przodków.
2. Insercja bloku genów *RAG1-RAG2* do pierwotnego genu immunoglobuliny.
3. Eksternalizacja bloku *RAG1-RAG2*, zachowanie TIR, które wyewoluowały w sekwencję sygnałową rekombinacji (RSS).
4. Namnożenie poprzez duplikację tandemową segmentów V i J.



Geny *RAG* pochodzą od transpozonu DNA. Białka RAG są homologiczne do transpozazy i są zdolne do przeprowadzenia transpozycji.

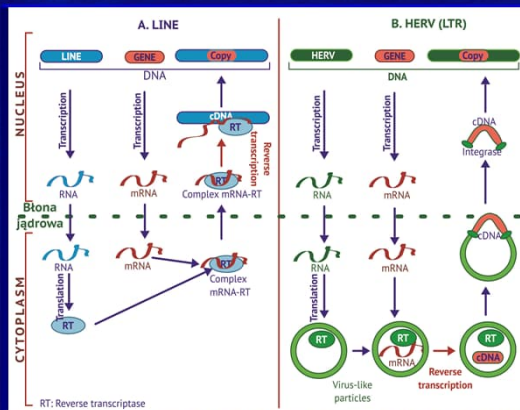
Koonin and Krupovic 2015

### 3. Rola transpozonów: retrogeny

**Retrogeny (retrokopie, pseudogeny): transkrypty znanych genów przekopiowane na cDNA za pomocą odwrotnej transkryptazy.**

#### Cykl życiowy retrokopii

- **Retrokopia: duplikacja genów poprzez mRNA i odwrotną transkrypcję.**
- **Retrogen: funkcjonalne retrokopie, transkrybowane, funkcja regulatorowa.**
- **Pseudogeny: retrokopie nieaktywne z mutacjami.**
- **Elementy *LINE1* mogą okazjonalnie skopiować mRNA, którego polyA jest „przypadkowo” rozpoznany.**
- **Elementy LTR mogą zmienić matrycę podczas syntezy cDNA i skopiować komórkowe mRNA.**



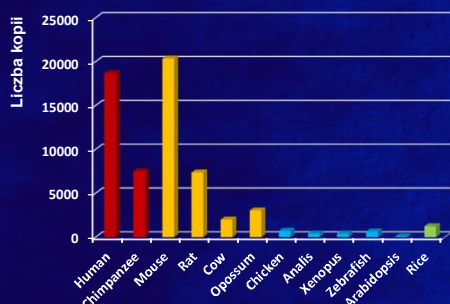
**Odwrotna transkrypcja może prowadzić do powstania cDNA będącego kopią komórkowego RNA. Powstałe geny nie zawierają intronów.**

Casola i Betran 2017

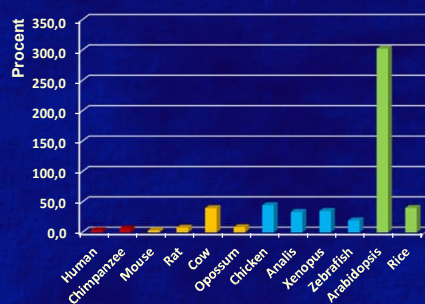


### 3. Rola transpozonów: retrogeny

**Duplikacja genów poprzez kopiowanie mRNA jest powszechnym zjawiskiem prowadzącym do różnicowania organizmów.**



Liczba retrokopii u różnych gatunków. Duża liczba retrokopii u naczelnych związana jest z aktywnością elementów *LINE1* i *Alu*. Człowiek wyróżnia się najwyższą liczbą retrokopii wśród naczelnych. Ptaki nie posiadają *LINE-1*, elementu odpowiedzialnego za wysoki poziom retrotranspozycji genów u człowieka.



Liczba retrokopii zidentyfikowanych jako retrogeny u różnych gatunków. U człowieka zidentyfikowano co najmniej 692 funkcjonalnych retrogenów, co stanowi 3% retrokopii. Wskazuje to na dużą liczbę młodych retrogenów, które mają niższy poziom transkrypcji oraz wąskie spektrum ekspresji.

**Udział funkcjonalnych retrogenów wśród ludzkich retrokopii jest niski. Jednakże, większość retrokopii tworzy transkrypty, co wskazuje na ich rolę biologiczną.**

Casola i Betran 2017





### 3. Rola transpozonów: retrogeny

**Duplikacja na skutek tworzenia retrokopii może by niekorzystna, dlatego ewolucja prowadzi do nadania retrokopiom nowych cech.**

**Podział funkcjonalny genu *CDC14B* u człowieka**

- ***CDC14B***: gen cyklu komórkowego, ma 4 warianty, które różnią się lokalizacją.
- Wariant mikrotubularny ***CDC14B*** (stabilizacja) dał początek retrogenowi 18-25 mln lat temu.
- Produkt retrogeny, ***CDC14Bretro***:
  - wyewoluował w kierunku specyficznej ekspresji w jądrach męskich i mózgu;
  - zmienił lokalizację subkomórkową z mikrotubuli na retikulum endoplazmatyczne.

Gen *CDC14B*, chr. 9, Kolory odpowiadają wariantom powstałym w wyniku różnego splicingu

*CDC14Bpar*: wariant, który uległ retrotranspozycji oraz jego lokalizacja komórkowa w interfazie i mitozie.

Retroduplikacja

*CDC14Bretro*: retrogen na chr. 7 oraz jego lokalizacja komórkowa w interfazie i mitozie.

human *CDC14Bpar*

human *CDC14Bretro*

**Retrogeny mogą nabyć nową funkcję, mogą być inaczej regulowane, funkcja pierwotna może być podzielona między pierwotny gen i retrokopię.**

Rosso i inni 2008

### 3. Rola transpozonów: elementy aktywne

**W przeciwieństwie do transpozonów DNA, retrotranspozony są wciąż aktywne u człowieka, *LINE-1*, *Alu*, *SVA*, *HERV-K*, *HERV-E*, *HERV-W***

**Aktywne retrotranspozony**

- 80-100 elementów *LINE1* jest aktywnych, retrotranspozycja występuje w 0,5% gamet.
- *Alu*: mobilizowane przez *LINE1*, nowe insercje w 5% gamet.
- *SVA*: mobilizowane przez *LINE1*, nowe insercje w 0,1% gamet.
- *HERV-K10*: aktywne w ludzkich oocytach.
- Przypadek retrotranspozycji zaobserwowano u mężczyzny z chorobą ziarniniakową.

TMF-1p mRNA

Odwrótne transkrypcja

TMF-1p cDNA

Integracja do intronu 1 genu *CYBB*, chr. X

TMF-1p-*CYBB* DNA

Translacja

Skrócone białko TMF-1p-*CYBB*  
Doprowadziło do choroby CGD.

Hybrydyzacja Southern genu *CYBB* pokazuje brak górnego prążka oraz dodatkowy prążek (czerwone elipsy) u osoby chorej. Transpozycja zaszła we wczesnych etapach rozwoju zarodkowego matki, która była chimerą – somatyczna mozaikowość (de Boer et al., 2014).

**Każde dwie osoby różnią się średnio 285-300 insercjami *LINE1*.  
Każdy człowiek ma średnio 6 nowych retroduplikacji.**

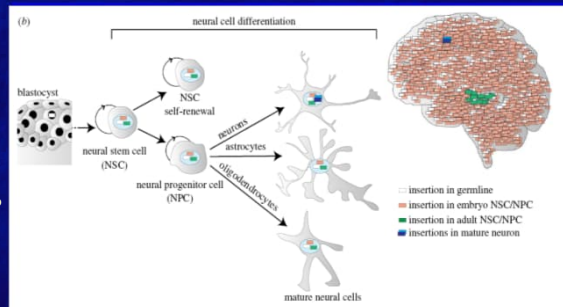
Georgiu i inni 2009, Kazazian i Moran, 2017; Zhang i inni 2017

### 3. Rola transpozonów: elementy aktywne

Elementy *LINE-1* są transkrybowane i przemieszczają się w mózgu podczas rozwoju, prowadząc do zróżnicowania neuronowego.

#### Retrotranspozycja *LINE-1* w tkankach mózgu

- Statystycznie istotny wzrost wewnątrzgenowych, nowych insercji obserwowano u osób ze schizofrenią. W tej populacji występowało 15% więcej nowych elementów niż w kontroli.
- Insercje obserwowano w 9 genach, w tym: *ER13* (egzorybonukleaza), *GRID2* (jonotropowy receptor glutaminianowy) i *KHDRBS2* (białko wiążące RNA).



W zależności od czasu i typu komórki, retrotranspozycje rozprzestrzeniają się klonalnie w komórkach nerwowych osób dorosłych. Gdy retrotranspozycja wystąpi w późniejszym okresie rozwoju mózgu, jest ograniczona do pojedynczych komórek. Wówczas wpływ na funkcje mózgu jest znacznie mniejszy.

Zwiększony poziom wewnątrzgenowych insercji elementów *LINE1* zaobserwowano w korze przedczołowej niektórych osób ze schizofrenią.

Doyle i inni 2017; Bodea i inni 2018



### 3. Rola transpozonów: elementy aktywne

Insercje *de novo* zazwyczaj występują w obrębie retrotranspozonów, jednakże do tej pory zidentyfikowano 124 nowe insercje w genach.

Element	Gen	Chromosom	[bp]	Choroba
<i>LINE-1</i>	<i>CYBB</i>	X	1 722	Przewlekła choroba ziarniniakowa, komórki układu immunologicznego nie wytwarzają aktywnych form tlenu
	<i>APC</i>	5	520	Rak jelita
	<i>HBB</i>	11	6 000	β-talasemia
<i>Alu</i>	<i>FVIII</i>	X	290	Hemofilia A
	<i>ALMS1</i>	2	257	Syndrom Alströma: otyłość dziecięca, dysfunkcja wielu organów, utrata wzroku i słuchu.
	<i>APC</i>	5	278	Guz desmoidalny: nienormalny wzrost, który związany jest z zaburzeniami w obrębie tkanki łącznej.
<i>SVA</i>	<i>FIX</i>	X	2 524	Hemofilia B
	<i>PMS2</i>	7	2 200	Syndrom Lynch'a: genotyp związany z wyższym ryzykiem raka jelita oraz innych nowotworów.

Większość ze 124 nowych insercji powodujących choroby prowadziła do inaktywacji genu na skutek mutagenyzy insercyjnej lub błędnego splicingu.

Hanks i Kazazian, 2016

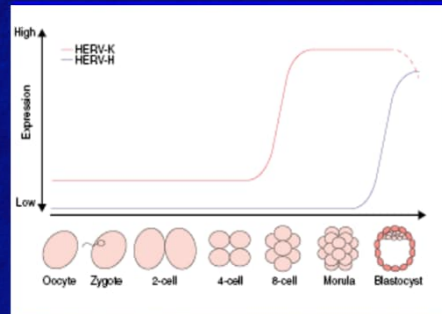


### 3. Rola transpozonów: regulacja

**Aktywacja transpozonów *ERV* podczas wczesnych etapów rozwoju embrionalnego ssaków reguluje totipotencję komórek.**

#### Indukcja transkrypcji przez *ERV*

- 30% miejsc inicjacji transkrypcji w ludzkich embrionach zlokalizowane jest w obrębie transpozonów.
- Deaktywacja *ERV* redukuje pluripotencję.
- Retrotranspozony *HERV-H* i *HERV-K* są miejscami przyłączenia czynników transkrypcyjnych związanych z pluripotencją.
- Transpozony *ERV* indukują szlak sygnałowy związany z ochroną przeciwwirusową.



Wzrost aktywności *HERV-K* i *HERV-H* w ludzkich embrionach w stadium 4-8 komórek .

**Totipotencja: zdolność do przekształcenia się w dowolną komórkę.**  
**Pluripotencja: zdolność do przekształcenia w dowolną komórkę somatyczną.**

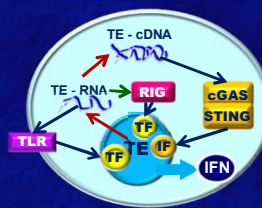


### 3. Rola transpozonów: regulacja

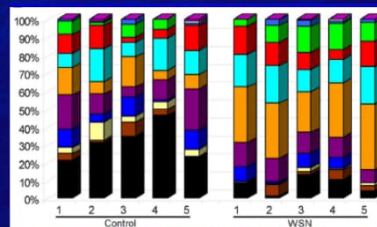
**Retrotranspozony indukują odporność komórkową i swoistą poprzez uruchamianie szlaków sygnałowych związanych z DNA i RNA.**

#### Szlaki „odporności”

- *ERV*: Obcy kwas nukleinowy jest rozpoznawany przez receptory typu Toll, które promują odpowiedź przeciwwirusową.
- *LINE-1* i *Alu*: indukują transkrypcję genów „zapalnych” i hamują syntezę wirusowych białek.
- W limfocytach B, *ERV* promują produkcję przeciwciał. Aktywacja TE może wywołać odpowiedź immunologiczną w wyniku odwrotnej transkrypcji i powstania cDNA.



Obcy RNA aktywuje receptory Toll lub RIG, cDNA – receptory cGAS. Receptory Toll indukują czynniki transkrypcyjne, które odpowiadają za produkcję interferonu (IFN). cGAS indukuje czynnik transkrypcyjny specyficzny dla interferonu. Dzięki temu indukowana jest odpowiedź immunologiczna (Marasca i inni 2020).



Porównanie poziomu ekspresji elementów *HERV* w komórkach ludzkich niezainfekowanych (kontrola) oraz komórkach zainfekowanych wirusem grypy A (Li i inni 2014).

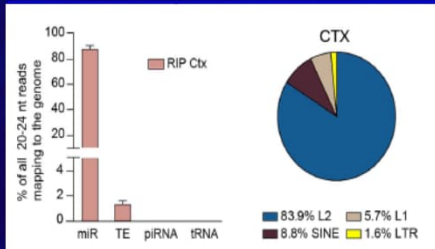
**Infekcja wirusem grypy prowadzi do aktywacji *HERV-W* przez wzrost poziomu czynników transkrypcyjnych i redukcję poziomu metylacji.**



### 3. Rola transpozonów: regulacja

**Retrotanspozony podlegają dynamicznej ekspresji w wielu komórkach ludzkich, tworząc sieć regulacyjną.**

- miR-28, miR-95, miR-151 oraz miRNA związane z AGO2 (Argonaute protein) są funkcjonalnymi miRNA pochodzącymi z *LINE-2* (L2).



AGO-2 związane z miRNA w korze mózgowej człowieka. Wykres słupkowy przedstawia procent sekwencji 20-24 bp (typowe dla miRNA) w genomie człowieka. Wykres kołowy – procent sekwencji pochodzących z TE.

**Małe, niekodujące cząsteczki RNA (20-24 bp), tzw. miRNA w tkankach ludzkich pochodzą z transpozonów, regulują one ekspresję genów.**

Petri i inni 2019



Gen kodujący białko

Wszystkie ludzkie L2-miRNA są zlokalizowane w intronach genów kodujących białka i współdziałają z promotorem.



Wiele miRNA pochodzących z elementów L2 jest zlokalizowanych obok siebie w odwrotnej orientacji.

Pierwotny transkrypt miRNA



Dojrzały L2-miRNAs

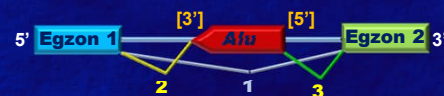
Okolo 2000 genów homebox zawiera element L2 w regionie 3'UTR. L2 jest miejscem rozpoznawanym przez L2-miRNA.

### 3. Rola transpozonów: regulacja

**Elementy *Alu* regulują ekspresję genów przez alternatywny splicing, edycję RNA oraz regulację translacji.**

**Regulacji ekspresji genów przez *Alu***

- 5% egzonów podlegających alternatywnemu splicingowi pochodzi od *Alu*, które zawierają 19-23 miejsc splicingu.
- Edycja RNA po transkrypcji jest niezbędna do prawidłowego rozwoju. Katalizowana jest przez enzymy z rodziny ADAR, większość miejsc edycji jest w obrębie *Alu*.
- W warunkach stresowych wzrasta ilość RNA z sekwencji *Alu*, które jest aktywatorem translacji, natomiast RNP z *Alu* jest inhibitorem translacji.



pre-mRNA z *Alu* w intronie o orientacji przeciwnej do transkrypcji. Cyfry wskazują różne możliwości splicingu.

1 Egzon 1 Egzon 2 Typowy splicing

**Egzonizacja *Alu***

2 +3 Egzon 1 *Alu* Egzon 2 Egzonizacja *Alu* przez wykorzystanie miejsc 5' i 3'

2 Egzon 1 *Alu* Egzon 2 Egzonizacja *Alu* przez wykorzystanie miejsca 3'

2 Egzon 1 *Alu* Egzon 2 Egzonizacja *Alu* przez wykorzystanie miejsca 5'

**Elementy *Alu* mogą być także wzmacniaczami transkrypcji, promotorami, sygnałami do poliadenylacji, a w regionach 3'UTR – celami dla microRNA.**

Hasler i Strub 2006

### 3. Rola transpozonów: podsumowanie

Transpozony wpływają pozytywnie i negatywnie na przystosowanie osobnika. Jest równowaga między inaktywacją i mobilizacją.

#### Transpozony

- Dostarczają elementów niezbędnych do tworzenia i re-modelowania sieci regulatorowych.
- Są istotne w wielu procesach będących podstawą ciąży, pluripotencji, rozwoju kory nowej, układu immunologicznego.
- Są pierwszymi elementami reagującymi na stresy biotyczne i abiotyczne.
- Współdziałają z licznymi czynnikami transkrypcyjnymi.
- Odpowiadają na sygnały i są zdolne do skoordynowanej regulacji ekspresji genów.



Historycznie, transpozony były zapomniane i ignorowane w badaniach genomów. Ich postrzeganie ewoluowało od „śmieciowego DNA” do elementów o istotnej roli ewolucyjnej i regulacyjnej.



### Piśmiennictwo

- Bodea GO, McKelvey EGZ, Faulkner G. 2018. Retrotransposon-induced mosaicism in the neural genome. *Open Biol* 8: 180074. Dostęp: <http://dx.doi.org/10.1098/rsob.180074>
- Casola C, Betran E. 2017. The genomic impact of gene retrocopies: what have we learned from comparative genomics, population genomics, and transcriptomic analyses? *Genome Biol Evol* 9:1351–1373. Dostęp: doi:10.1093/gbe/evx081
- Chandramouly G, Zhao J, McDevitt S, Rusanov T, Hoang T, Borisonnik N, Treddinick T, Lopezcolorado FW, Kent T, Siddique LA. 2021. Polθ reverse transcribes RNA and promotes RNA-templated DNA repair. *Sci Adv* 7:eabf1771
- Ferrari R, Grandi N, Tramontano N, Dieci G. 2021. Retrotransposons as drivers of ammalian drain evolution. *eLife* 11: 376. Dostęp: <https://doi.org/10.3390/life11050376>
- Grandi N, Tramontano E. 2018. Human Endogenous Retroviruses are ancient acquired elements still shaping innate immune responses. *Front Immunol* 9:2039. Dostęp: doi: 10.3389/fimmu.2018.0203
- Hancks DC, Kazazian HH Jr. 2016. Roles for retrotransposon insertions in human disease. *Mobile dNA* 9:7. Dostęp: DOI10.1186/s13100-016-0065-9
- Hickman AB, Dyda F. 2016. Mechanism of DNA transposition. *Microbiol Spectr* 3: MDNA3-0034. Dostęp: doi:10.1128/microbiolspec.MDNA3-0034-2014
- Hasler J, Strub K. 2006. *Alu* elements as regulators of gene expression. *Nucleic Acids Research* 34:5491–5497. Dostęp: doi:10.1093/nar/gkl706
- Henssen AG, Henaff R, Jiang E, Eisenberg AR, Carson JR, Villasante CM, Ray M, Still E, Burns M, Gandara J et al. 2015. Genomic DNA transposition induced by human *PGBD5*. *eLife* 4:e10565. Dostęp: DOI: 10.7554/eLife.10565
- Kazazian HH Jr, Moran JV. 2017. Mobile DNA in health and disease. *N Engl J Med* 377: 361–370. Dostęp: doi:10.1056/NEJMr1510092
- Kojima KK. 2018. Human transposable elements in Repbase:genomic footprints from fish to humans. *Mobile DNA* 9:2. Dostęp: DOI10.1186/s13100-017-0107-y
- Koonin EV, Krupovic M. 2015. Evolution of adaptive immunity from transposable elements combined with innate immune systems. *Nat Rev Genet* 16: 184–192. Dostęp: doi:10.1038/nrg3859.



## Piśmiennictwo

- Pace II JK, Feschotte C. 2007. The evolutionary history of human DNA transposons: evidence for intense activity in the primate lineage. *Gen Res* 17: 422-432. Dostęp: [www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.5826307](http://www.genome.org/cgi/doi/10.1101/gr.5826307)
- Rosso L, Marques AC, Weier M, Lambert N, Lambot MA, Van der Haeghen P, Kaessmann H. 2008. Birth and rapid subcellular adaptation of a hominoid-specific CDC14 protein. *PLoS Biol* 6: e140. Dostęp: [doi:10.1371/journal.pbio.0060140](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.0060140)
- Schwertz HJ, Rowley JW, Schumann GG, Thorack U, Campbell RA, Manne BK, Zimmerman GA, Weyrich AS, Rondina MT. 2018. Endogenous *LINE-1* reverse transcriptase activity in platelets controls translational events through RNA-DNA hybrids. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 38:801–815. Dostęp: [doi:10.1161/ATVBAHA.117.310552](https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.117.310552)
- Wang Z, Kunze R. 20165. Transposons in Eukaryotes: structures, mechanisms and applications. In: eLS. John Wiley & Sons, Ltd: Chichester. Dostęp: DOI: 10.1002/9780470015902.a0026264
- Zhang Y, Li S, Abyzov A, Gerstein MB. 2017. Landscape and variation of novel retroduplications in 26 human populations. *PLoS Comput Biol* 13:e1005567. Dostęp: <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1005567>



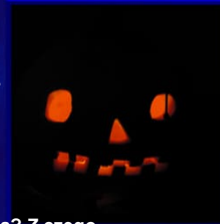
## Zagadnienia 1-2

### 1. Czym są transpozony?

- Proszę podać definicję transpozonu?
- Jaki procent genomu człowieka stanowią transpozony?
- Który gatunek ma więcej transpozonów: *Homo sapiens* czy *Zea mays*?
- Czym charakteryzują się miejsca insercji transpozonów?

### 2. Czym są transpozony? Klasa I

- Proszę podać podział transpozonów,
- Do jakiej klasy należą elementy: *Ty3/Gypsy*, *hobo*, *SINE*, *Tc1/mariner*?
- Która grupa transpozonów najliczniej występuje w genomach Eukariota? Z czego wynika wyższa częstość tej grupy?
- W jaki sposób przemieszczają się retrotranspozony?
- Na podstawie struktury proszę wyjaśnić dlaczego element *SINE* jest elementem nieautonomicznym.
- Proszę podać geny i ich funkcje w transpozonie typu LTR.
- Jaka jest funkcja poszczególnych genów w transpozonie LINE?
- Co oznacza nazwa LTR?
- Na czym polega odwrotna transkrypcja?
- Jakie dowody potwierdzają hipotezę pochodzenia DNA w wyniku odwrotnej transkrypcji?
- Czy u człowieka występuje odwrotna transkryptaza? Proszę uzasadnić odpowiedź.
- Proszę podać przykłady enzymów należących do tej samej rodziny co odwrotna transkryptaza.
- Jakie startery są wykorzystywane przez odwrotną transkryptazę?



## Zagadnienia 3-4

### 3. Czym są transpozony? Klasa II

- Na jakiej podstawie wyróżnia się transpozony klasy II.
- Czy różni się transpozycja prosta od replikatywnej?
- Co oznacza skrót TIR?
- Proszę porównać strukturę autonomicznego i nieautonomicznego transpononu DNA.
- Jakich wyróżniamy typy transpozaz?
- Czy domeny obecne w transpozazie są unikalne? Proszę uzasadnić odpowiedź.
- Jaka jest charakterystyczna triada w domenie transpozazy typu RNazyH?
- Co ma wspólnego transpozaza typu RNazyH z fragmentem Klenowa?
- Proszę podać przykład aktywnej transpozazy typu RNazyH u człowieka. W jakich strukturach przejawia się aktywność tego enzymu?



### 4. Transpozony człowieka

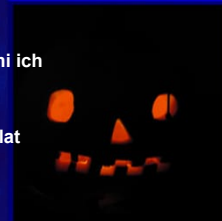
- Proszę wymienić typy retrotranspononów człowieka oraz podać częstość ich występowania?
- Który typ transpononów pojawił się w okresie radiacji naczelnych, a który jest typowy dla hominidów?
- Który typ retrotranspononów nie-LTR jest autonomiczny?
- Na jakiej podstawie klasyfikuje się transpozony człowieka?
- Proszę podać cechy retrotranspononów człowieka nie zawierających LTR.
- Jakich rodziny transpononów LTR wyróżnia się u człowieka? Co jest podstawą tej klasyfikacji?
- Które ludzkie geny pochodzą od transpononów DNA?



## Zagadnienia 5-6

### 5. Rola transpononów, ewolucja

- W jaki sposób transpozony indukują zmiany w genomie?
- Dlaczego transpozony koewoluowały z mechanizmami ograniczającymi ich ekspansję?
- Proszę podać typ transpononu *Alu*, który ewoluował u hominidów.
- Co przyczyniło się do remobilizacji transpononów *Alu* około 1,5-1 mln lat temu?
- Jakich dowody wskazują na rolę transpononów *Alu* w rozwoju mózgu u człowieka?
- Proszę podać loci *ERV* istotne w rozwoju mózgu człowieka.



### 6. Rola transpononów, układ immunologiczny

- Na czym polega interferencja między elementami *HERV* a *HIV*?
- Z czego wynika różnorodność przeciwciał u ssaków, w tym człowieka?
- Jakich jest uwarunkowanie genetyczne poszczególnych elementów przeciwciał?
- Jaki proces genetyczny ma miejsce podczas tworzenia przeciwciał?
- Jaka jest funkcja genów *RAG*?
- Jakich jest pochodzenie genów *RAG*?
- Proszę omówić ewolucję genów odpowiedzialnych za swoistą odpowiedź immunologiczną?



## Zagadnienia 7-8

### 7. Rola transpozonów, retrogeny

- Proszę zdefiniować: retrogen, retrokopia, pseudogen.
- Jak powstają retrokopie?
- Czym różnią się retrokopie od genów?
- Co jest matrycą do powstania retrokopii?
- Jaki jest najczęstszy mechanizm duplikacji genów?
- Jakie są dowody wskazujące na obecność wielu młodych retrokopii u człowieka?
- Proszę porównać liczbę retrokopii u człowieka z liczbą retrokopii u innych kręgowców.
- Jak powstał gen *CDC14B* specyficzny dla mózgu i męskich jąder?



### 8. Rola transpozonów, elementy aktywne

- Czy w genomie człowieka są aktywne transpozony? Proszę uzasadnić odpowiedź.
- Czy u przeciętnego mieszkańca Polski występują retroduplikacje? Proszę uzasadnić odpowiedź.
- Jakie jest prawdopodobieństwo wystąpienia retrotranspozycji w gametach ludzkich?
- W jakich tkankach obserwuje się zwiększoną aktywność *LINE-1*?
- Jakie elementy genomu są najczęstszym biorcą retrotranspozonów?
- Mutacja warunkująca hemofilię w rodzinie królowej Wiktorii pojawiła się u jej ojca. Jaka mogła być przyczyna tej mutacji i z jakim prawdopodobieństwem mogła ona wystąpić?



## Zagadnienia: 9


### 9. Rola transpozonów, regulacja

- Jaka jest funkcja elementów ruchomych podczas rozwoju embrionalnego?
- Jakie szlaki sygnałowe indukowane są przez transpozony?
- Jak jest funkcja elementów *ERV* w limfocytach B?
- Czy poziom ekspresji transpozonów ulega zmianie pod wpływem infekcji wirusowych?
- Jakie jest pochodzenie miRNA?
- Proszę podać najczęstszą lokalizację sekwencji L2-miRNA?
- Proszę omówić proces powstawania dojrzałego L2-miRNA.





**Centre for Evolution, Genomics  
and Biomathematics, e-Gene**



**e-Gene**

**polokkornelia@gmail.com**

**<https://www.matgen.pl>**