

Transpozony - mobilní genetické elementy

- **Tvoří pravidelnou součást genomu prokaryot i eukaryot (až 50% genomu)**
- **Navozují mutace genů (inzerční inaktivace, polární mutace, změny exprese genů)**
- **Jsou zodpovědné za přestavby chromozomů nebo plazmidů (tvoří "přenosné" úseky homologie, podmiňující homologní rekombinace, interakce mezi složkami genomu)**
- **Přenášejí nové znaky (např. AntR, onkogeny) mezi organismy (horizontální přenos genů)**

Specifické rysy transpozice:

- **cílová místa nejsou homologická s místy donorovými**
- **obvykle dochází k duplikaci přenášené sekvence, tj. transpozon zůstává i v původním donorovém místě**
- **v místě inzerce se zdvojují ve stejném směru sekvence DNA - transpozon je na obou koncích ohraničen přímými repeticemi, což je důsledek mechanismu transpozice**
- **po inzerci transpozonu do cílového místa dochází k inaktivaci genů, po excizi transpozonu se funkce obnovuje.**

Základní typy transpozonů a jejich klasifikace

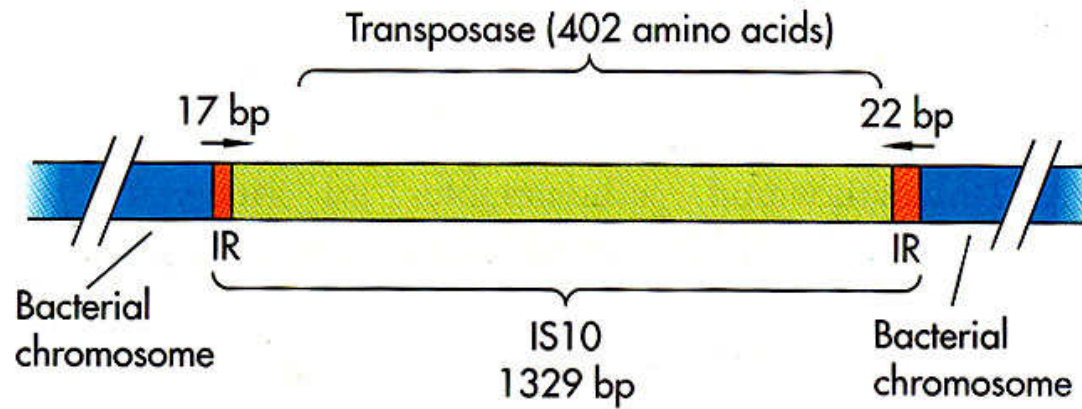
DNA-transpozony

- **Transpozony „cut and paste“** (prokaryota a eukaryota) – vyčlení se z původního místa a začleňují se do nového
- **Replikativní transpozony** (prokaryota) – během transpozice se replikují (jedna kopie zůstává v původním místě, druhá se objeví v novém místě)
 - **Konjugativní transpozony** (bakterie)
- 3. **Retrotranspozony** (eukaryota) – **během transpozice se transkripční sekvence transpozonu vytváří RNA**, která se převádí na DNA, která se pak začleňuje do nového místa
 - **retroviry**,
 - **retrovirům podobné elementy, retrotropozony**
 - **retrony** (bakterie)

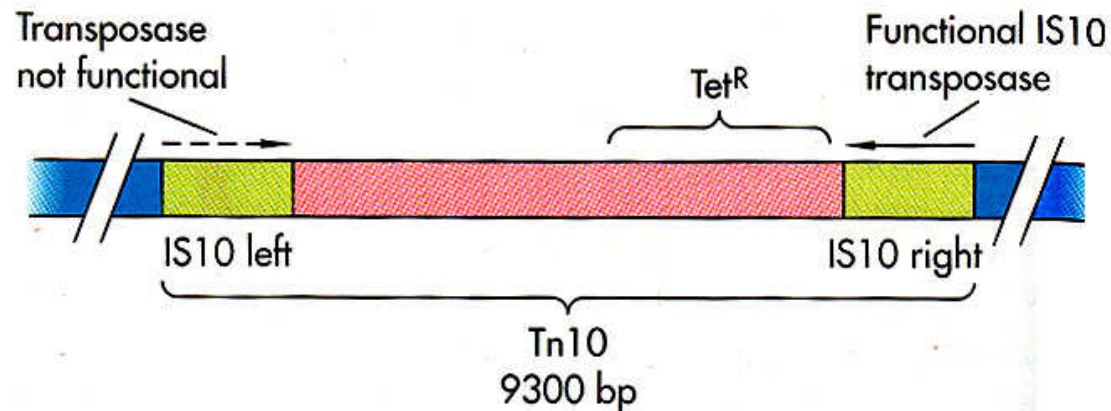
Struktura mobilních elementů bakterií

Inzerční sekvence (IS)

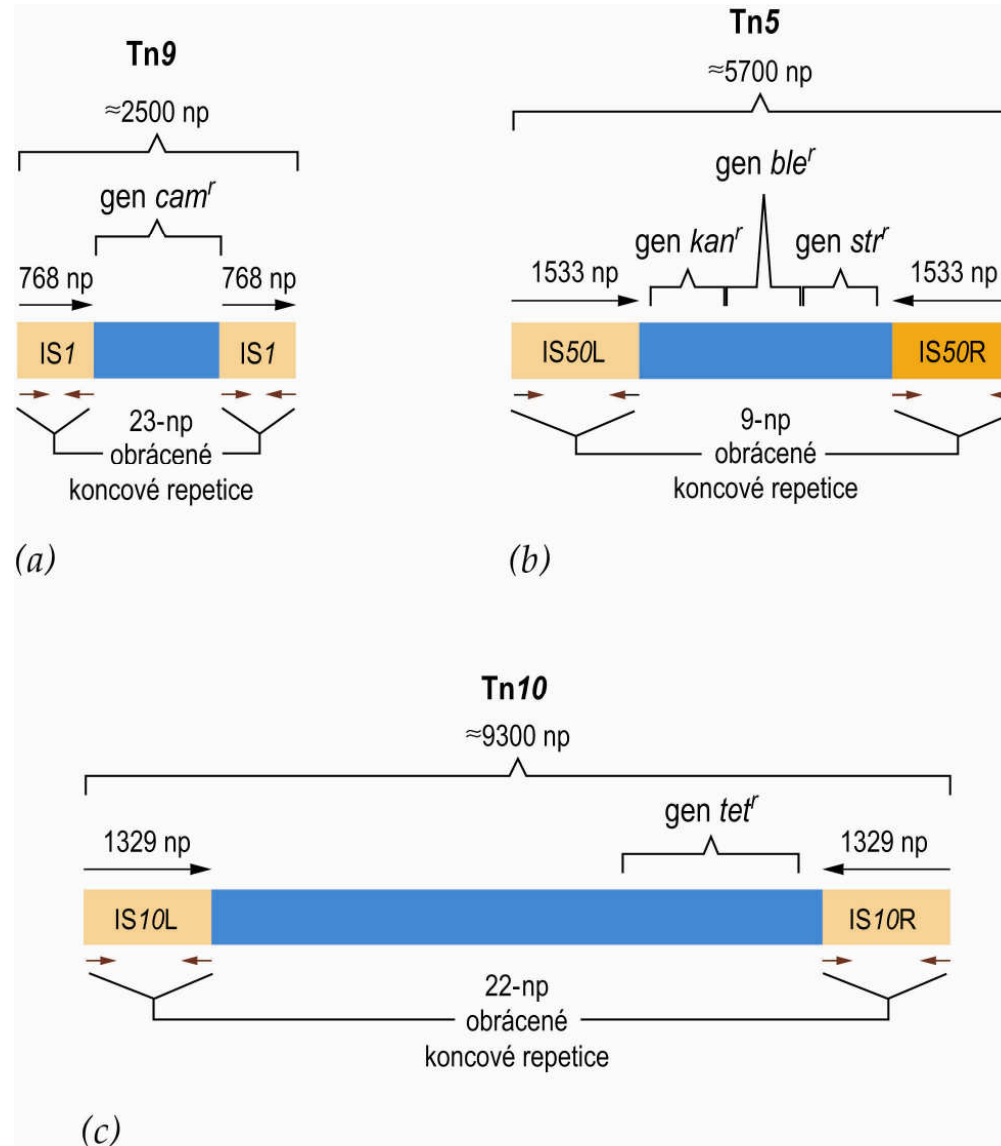
transponáza



Složené transpozony (Tn)

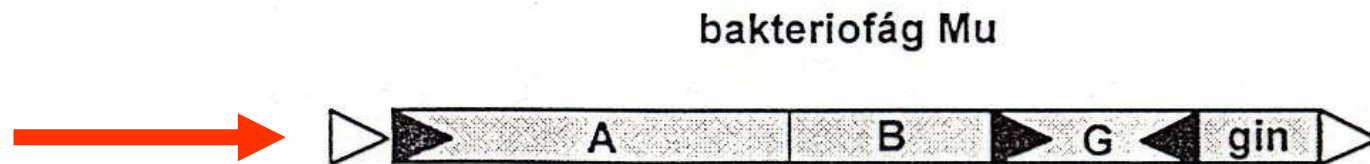
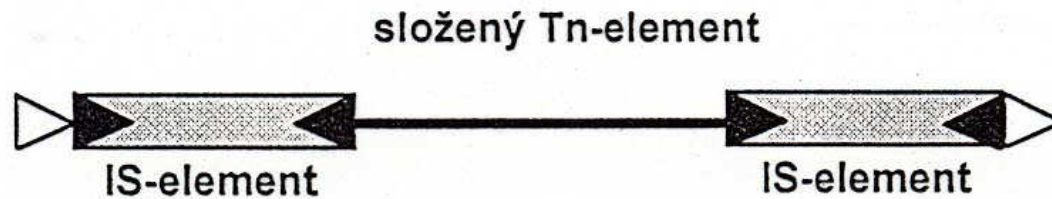
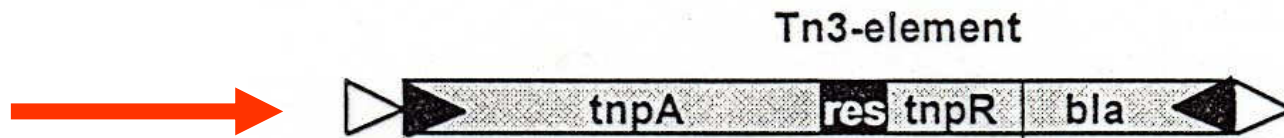
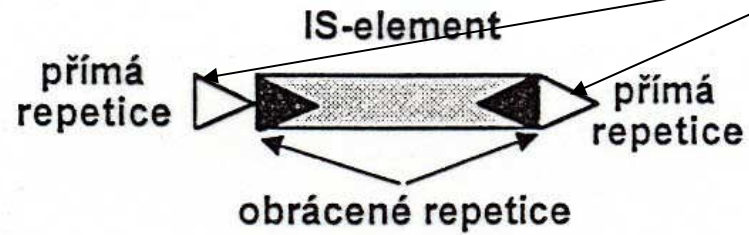


Příklady složených transpozonů bakterií



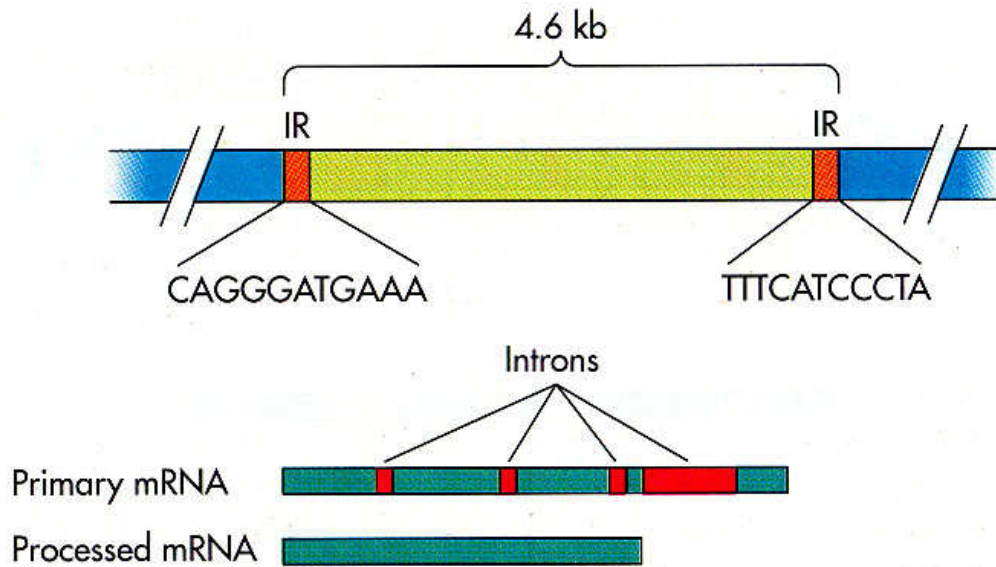
prokaryotické transpozony

Vedle místa začlenění



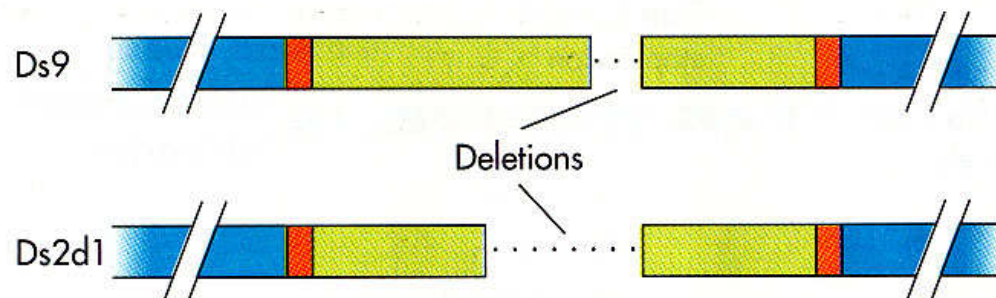
Mobilní elementy u kukuřice (Ac/Ds) (Elementy B. McClintockové)

Ac element



Autonomní elementy schopné zajistit vlastní transpozici

Ds elementy



Neautonomní elementy schopné transpozice za přítomnosti Ac elementů

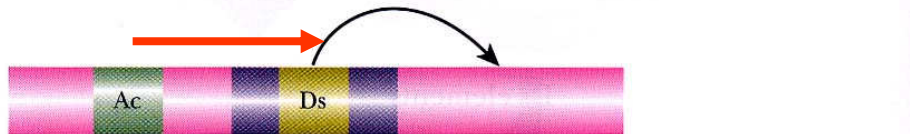
Transpozice Ds elementu u kukuřice



Funkční gen pro purpurovou barvu obilek



Gen pro purpurovou barvu obilek přerušeny transpozonem



Vyčlenění Ds elementu z genu zprostředkované transponázou Ac elementu

TRANSPOSITION



Znovunabytí funkce genu pro purpurovou barvu obilek v buňkách, v nichž došlo k vyčlenění transpozonu.



Náhodnost procesu vyčlenění má za následek vznik skvrnitých obilek

Transpozony u kukuřice



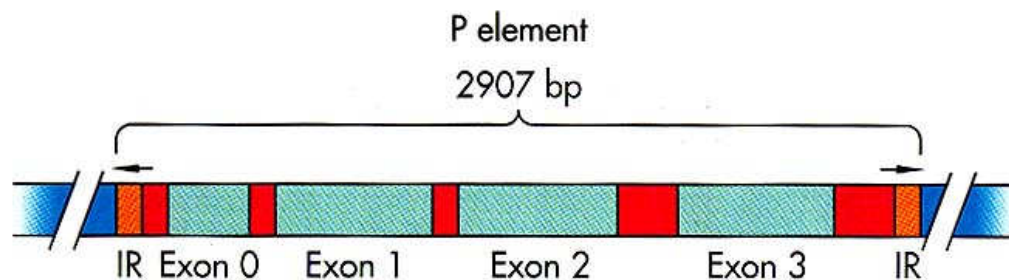
Figure 21-42 Mosaicism through transposon mutagenesis in corn. These seeds represent genotypes in which a transposon has inserted into a gene that produces anthocyanin. Therefore, the cells of these seeds are predominantly lacking anthocyanin and are yellow; let us call the genotype $A^T A^T$. However, during development, the transposon can occasionally exit from the gene, forming a revertant cell of genotype AA^T . Cell division will result in a clone of revertant cells and hence a patch of pigmented cells. The three different rows represent corn lines in which the transposon exits early (large spots), late (small spots), or in between (intermediate spots).

Transpozony u *Antirrhinum*

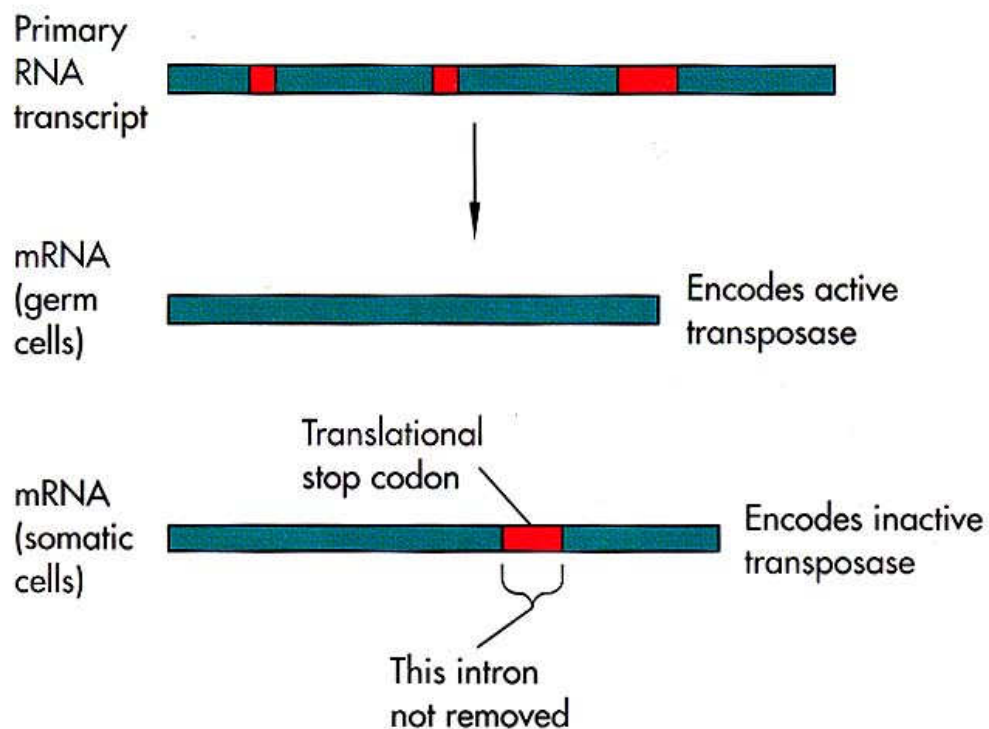


Mozaikovitost květu je způsobena pohyby transpozonů, které jsou začleněny do obou alel genu pro anthokyanin. Vyčlenění transpozonů vede k vytváření červených sektorů.

Mobilní elementy *Drosophila melanogaster* - P elementy



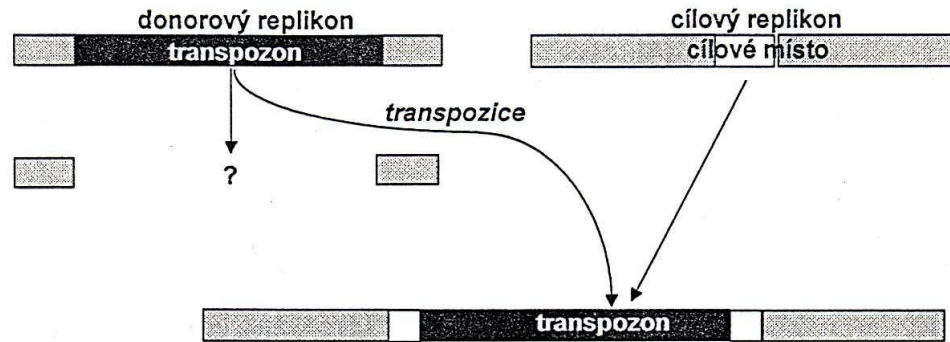
Transpozony navozující dysgenezi hybridů



K transpozici dochází jen v zárodečných buňkách, kde se tvoří aktivní transponáza

mariner – různé druhy drosofil, aj.

Mechanismy transpozice

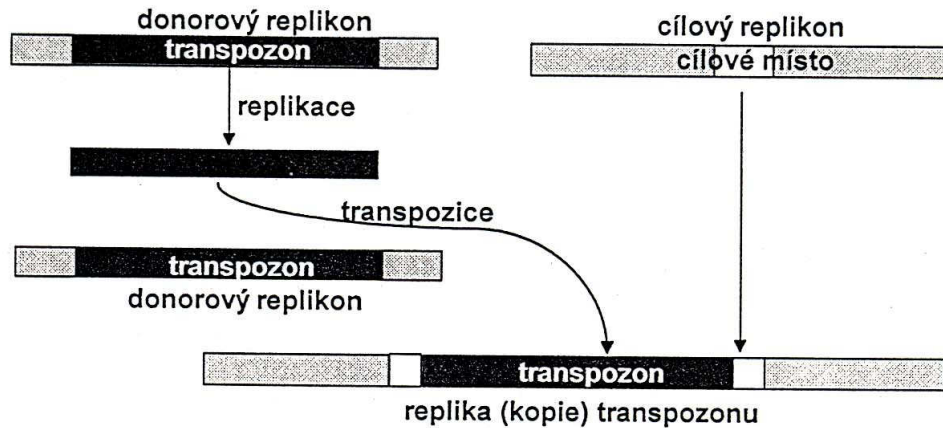


Obr. 403
Konzervativní transpozice

„cut and paste“

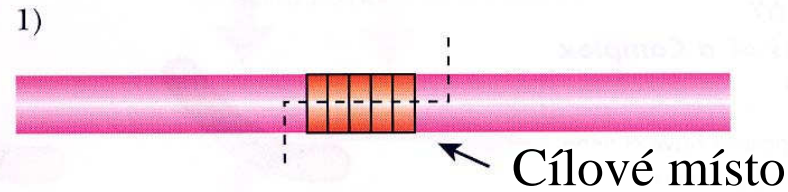
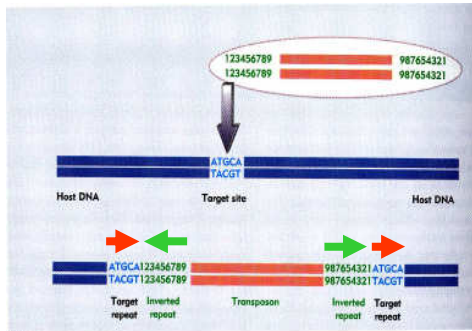
Typy transpozice

- intramolekulární
- intermolekulární



Obr. 404
Replikativní transpozice

Vznik přímých repeticí v cílovém místě po začlenění transpozonu



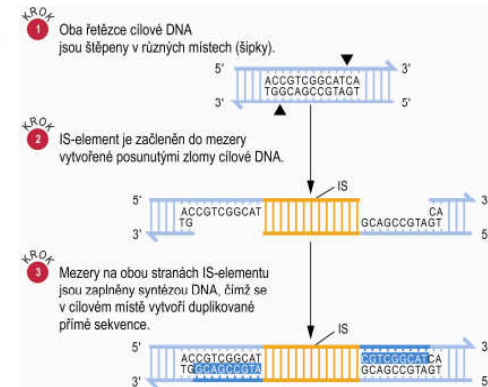
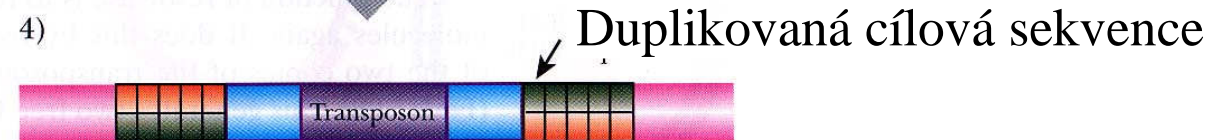
Vytvoření posunutých zlomů transponázou



Začlenění transpozonu do cílového místa

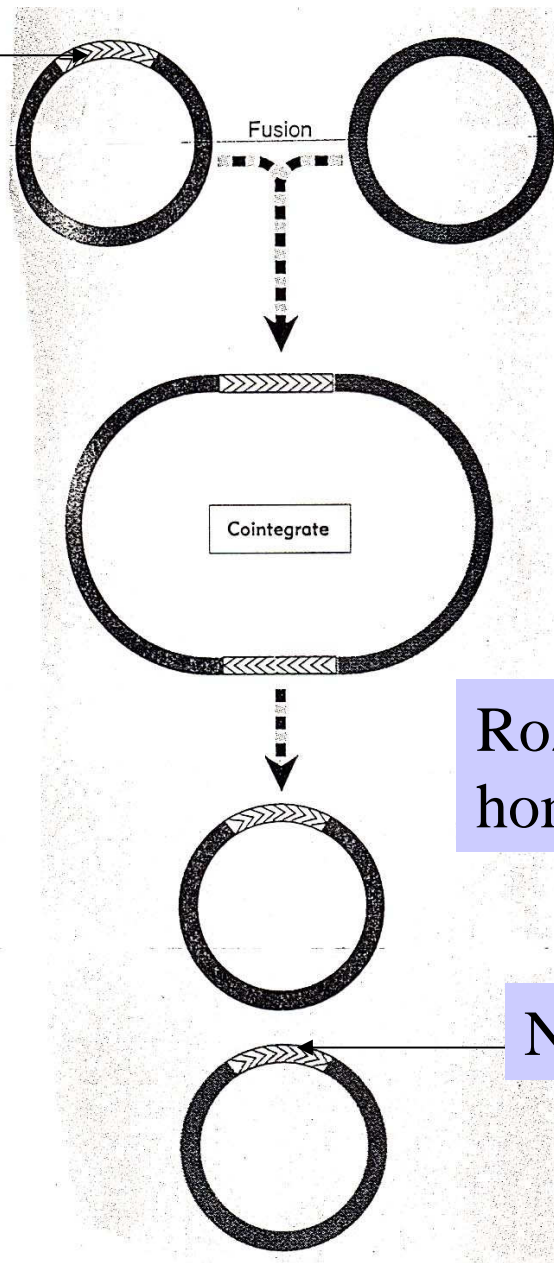


Doplnění komplementárních úseků



Replikativní transpozice

transpozon

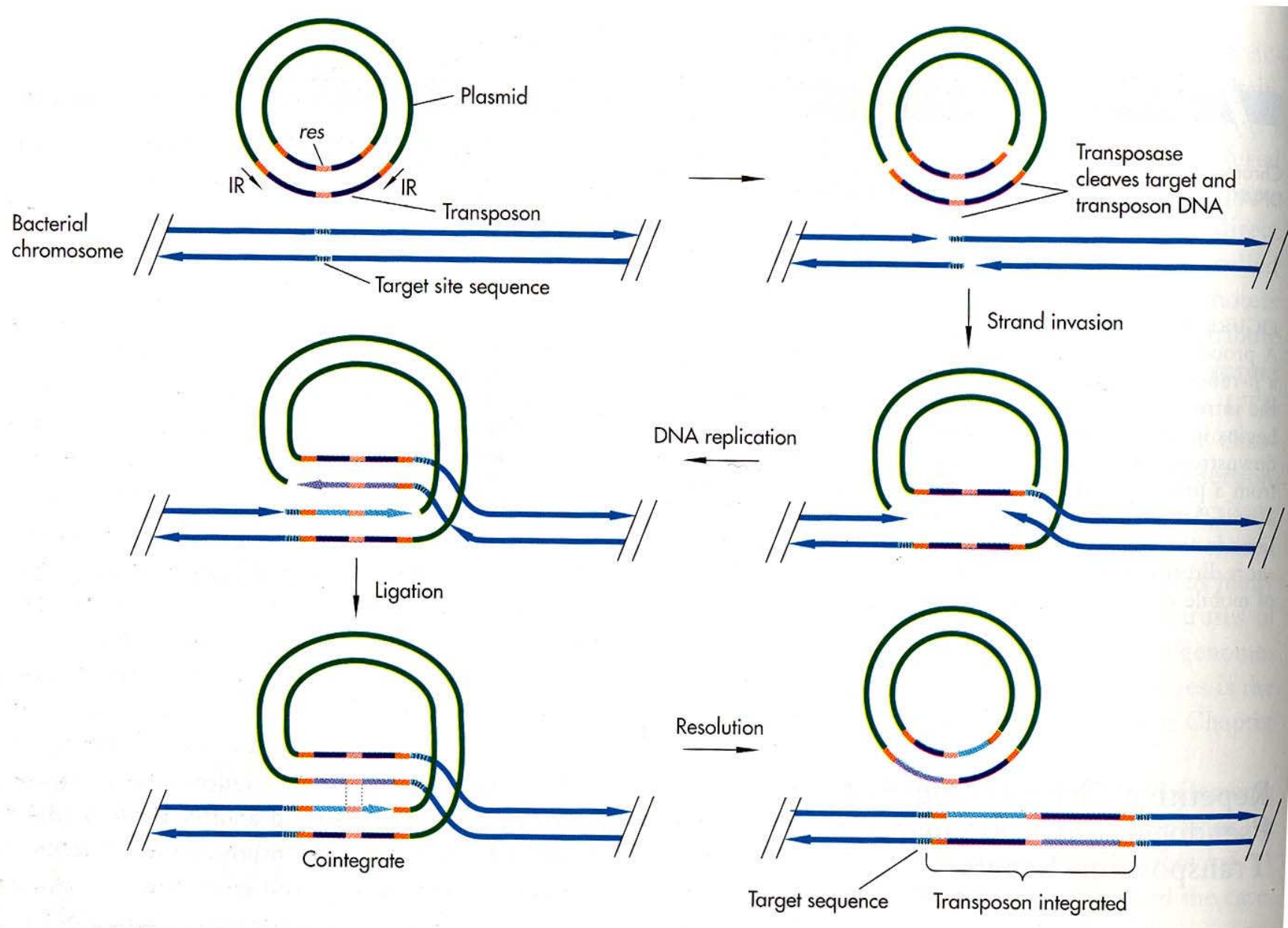


Vznik kointegrátu


Rozklad kointegrátu
homologní rekombinací

Nová kopie transpozonu

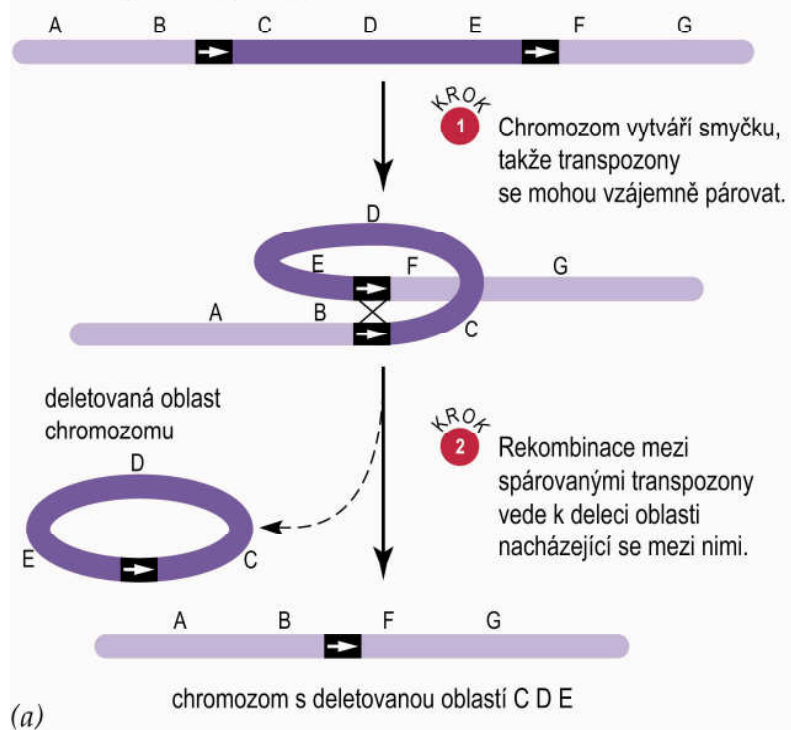
Mechanismus replikativní transpozice



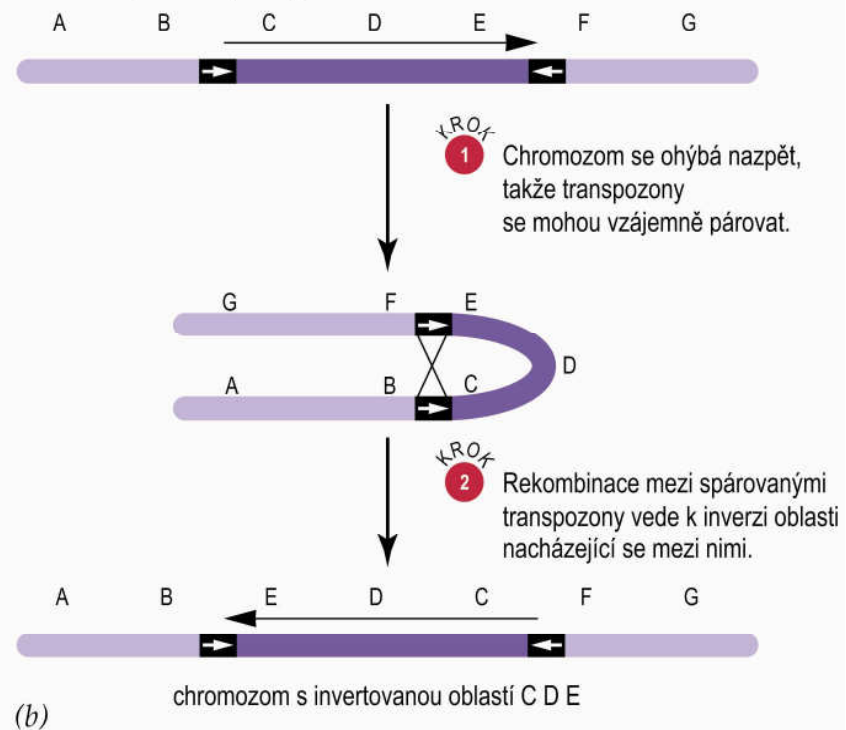
Chromozomová přeskupení navozená transpozony

 = transpozon

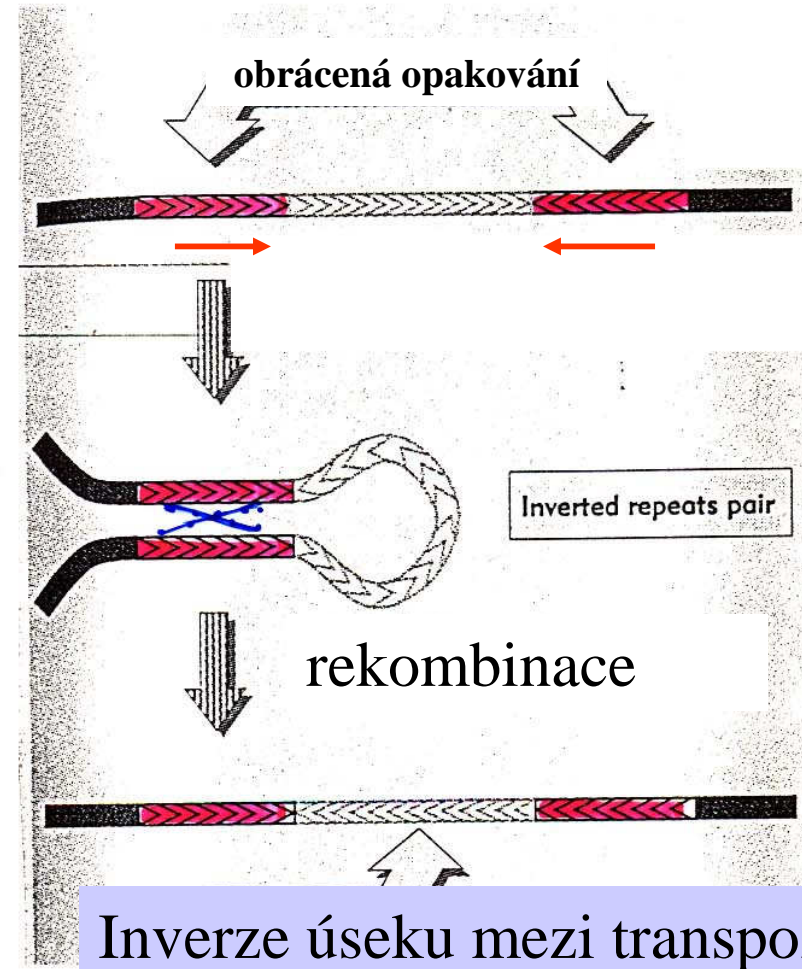
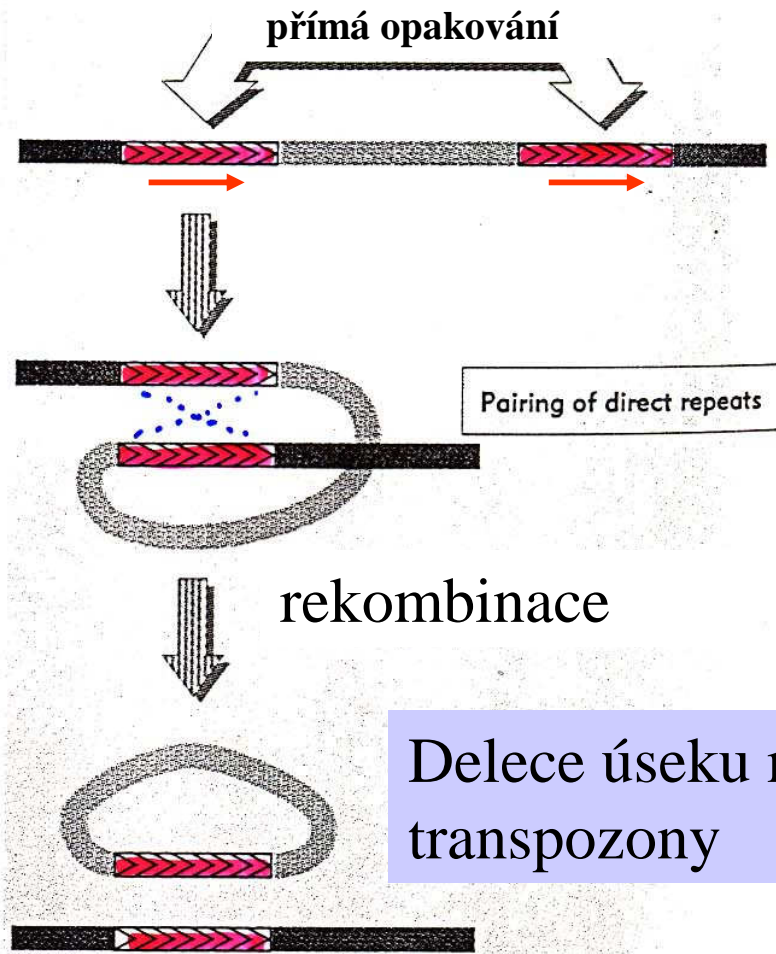
chromozom se dvěma stejně orientovanými transpozony



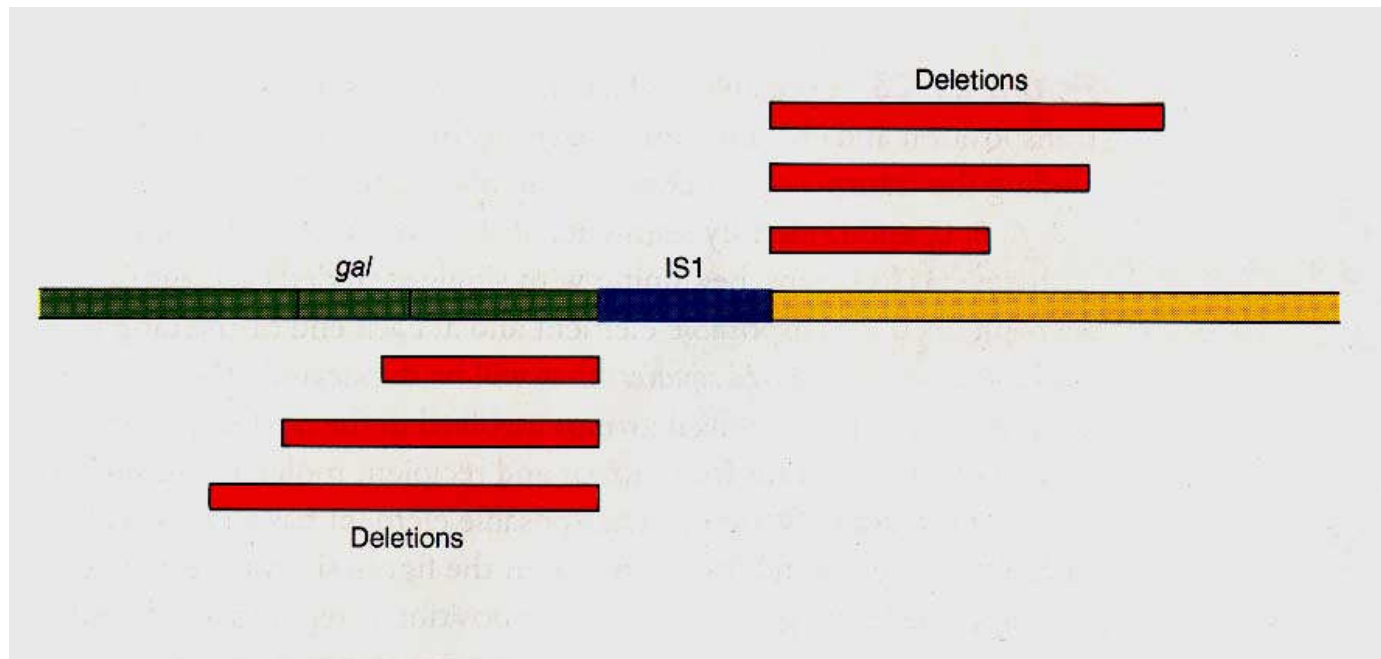
chromozom se dvěma opačně orientovanými transpozony



Vznik delecí a inverzí

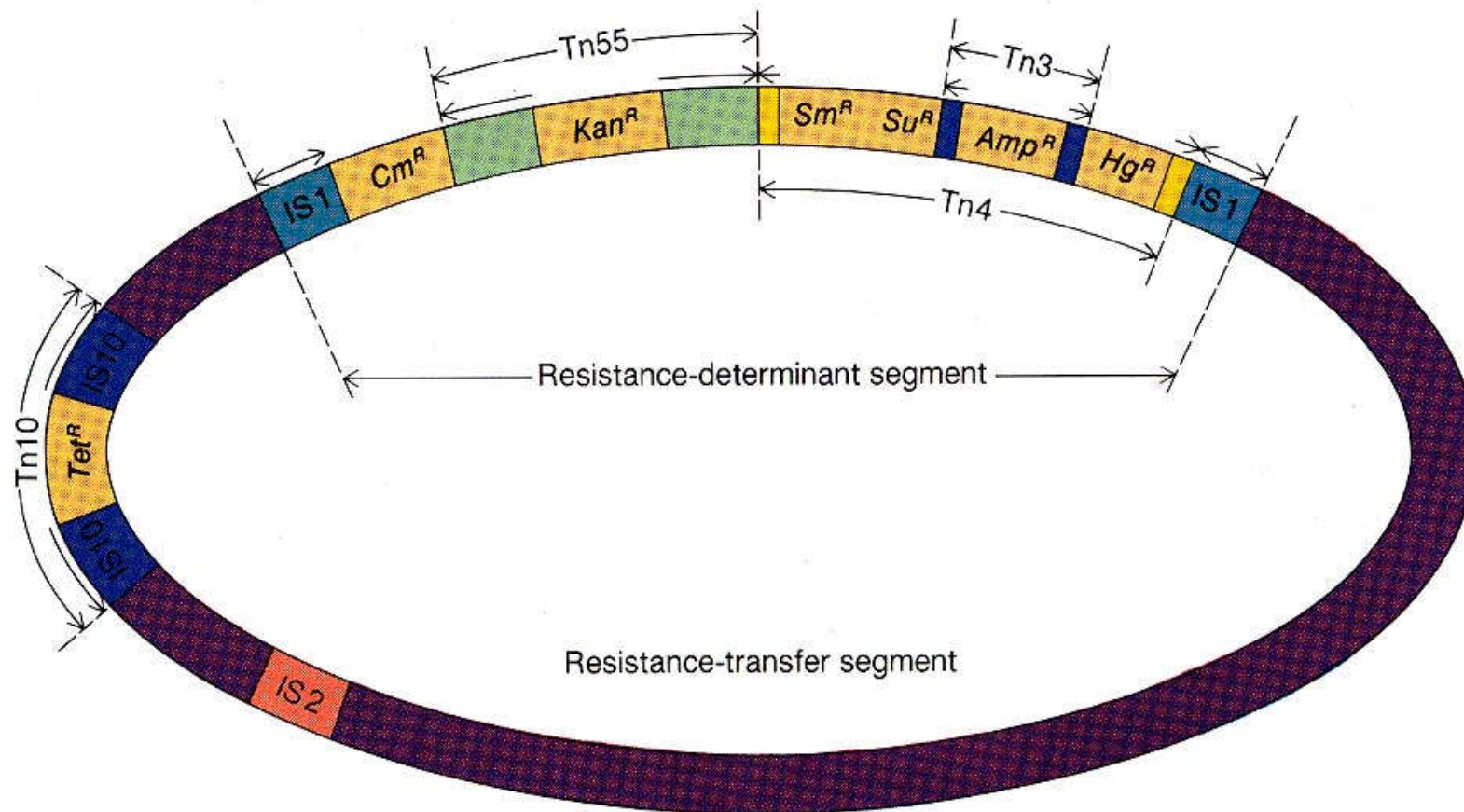


Delece pozorované v místě začlenění IS1 v lokusu gal *E. coli*

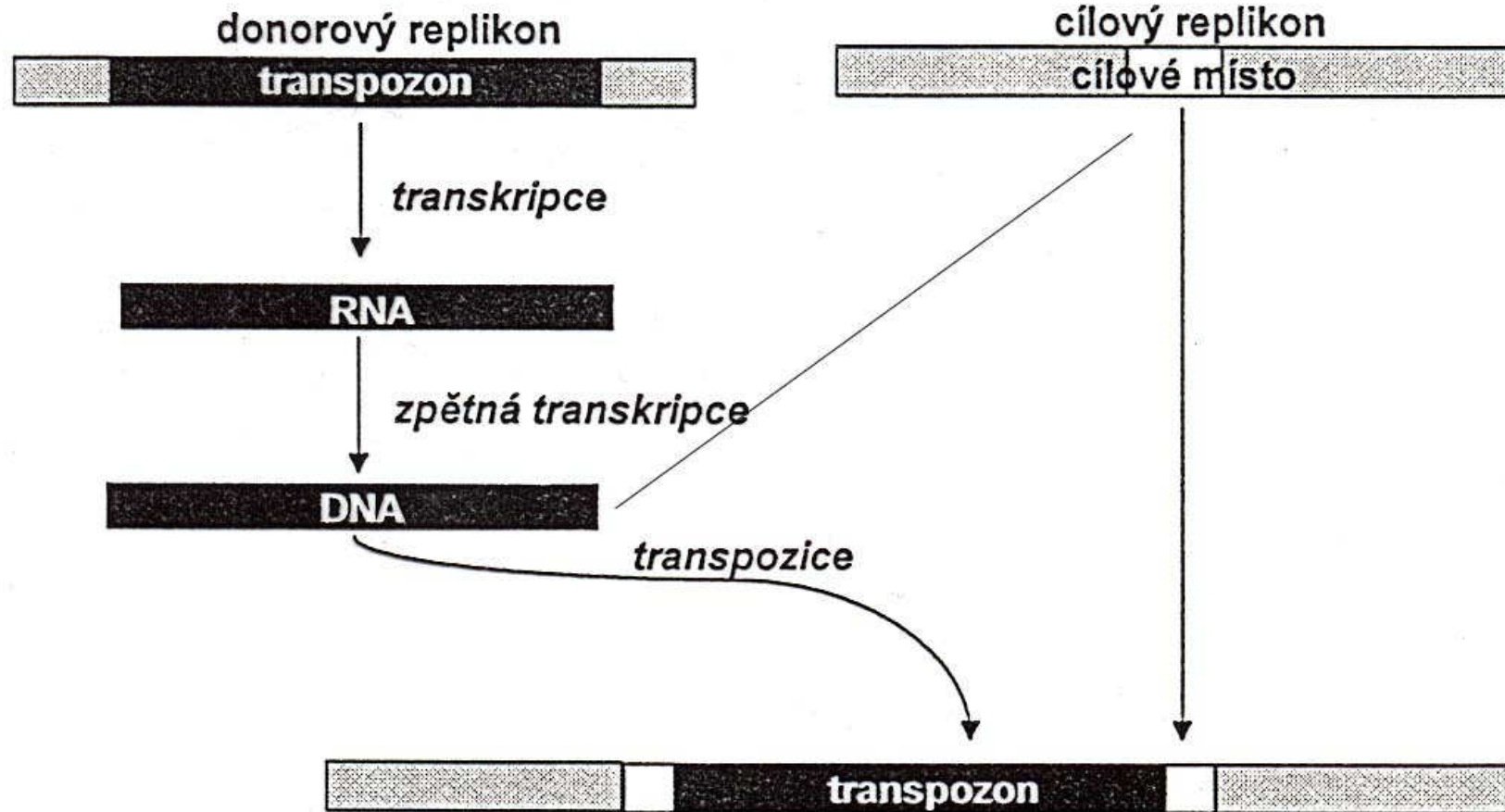


Úloha transpozonů při evoluci R-plazmidů

- každý transpozon může být přenášen nezávisle



Retropozice



RETROELEMENTY



1. NEVIROVÉ RETROELEMENTY (LTR, reverzní transkriptáza, integráza)

A. Retrotranspozony (obsahují LTR)

- * Ty-elementy u kvasinek (6,3 kb)
- * Copia-elementy u drozofily (5 kb)

B. Retropozony (bez LTR)

- * krátké sekvence SINE (short interspersed element) - <500 bp, 10^5 kopií - odvozeny z genů pro malé RNA, včetně tRNA (pseudogeny)
- * dlouhé sekvence LINE (long interspersed element)- 6,5 kb, 20 000 - 50 000 kopií u savců

C. Retrosekvence (cDNA geny) (bez LTR, reverzní transkriptázy a integrázy)

reverzní transkripty strukturních genů - upravené přepisy bez intronů, s poly(A)

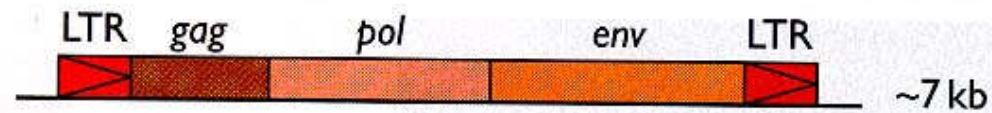
- * Retrogeny - funkční retrosekvence kódující identický protein jako původní gen
- * Retropseudogeny - nefunkční formy genů
 - Alu- sekvence (z 7SL RNA, 300 bp, u člověka 500 000 x)



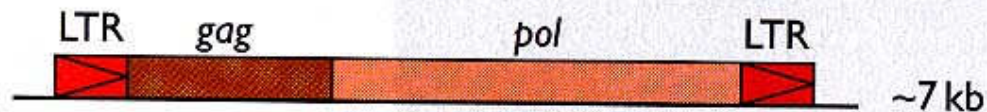
2. VIROVÉ RETROELEMENTY virus HIV

Srovnání struktury čtyř typů retroelementů

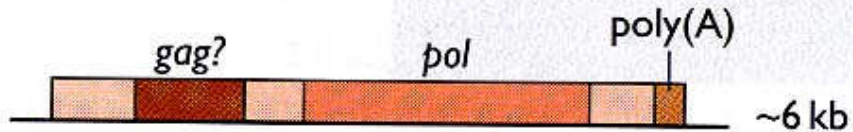
(A) Retrovirus



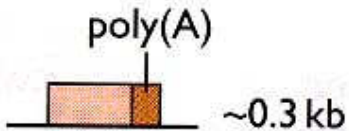
(B) Ty1/copia retrotransposon



(C) LINE **nemají LTR**



(D) SINE



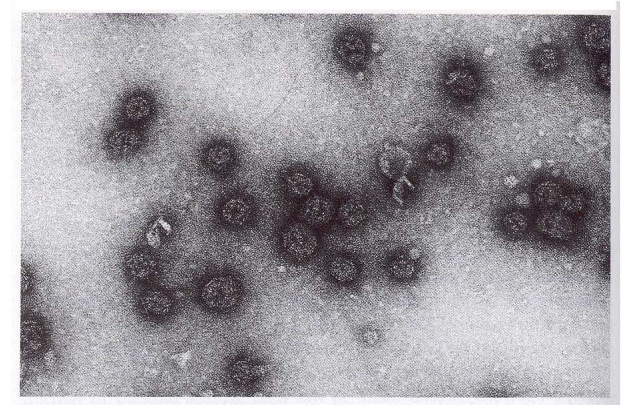
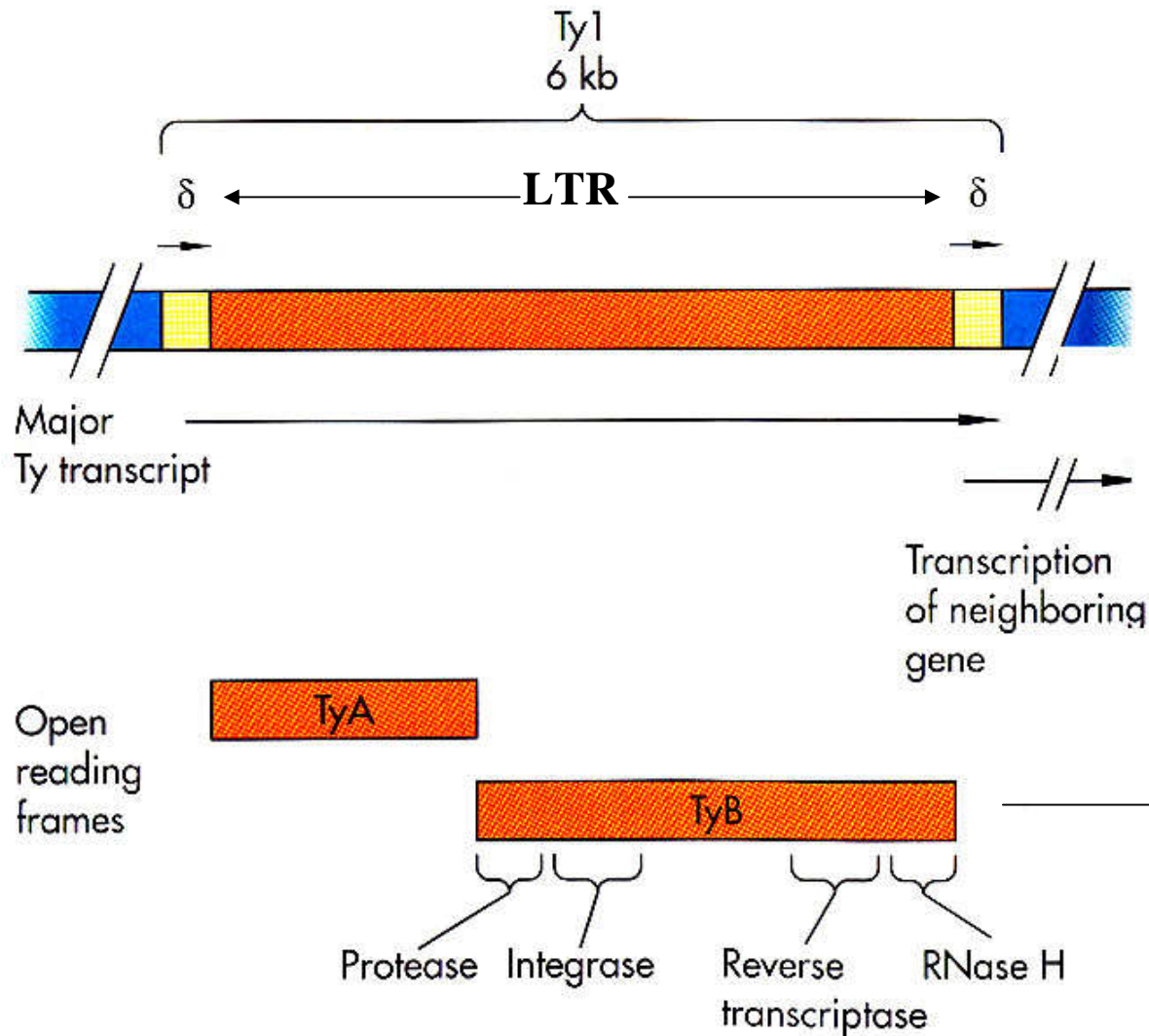
neautonomní

RT

Mobilní elementy kvasinek - Ty elementy

Retrovirům podobné elementy

Virům podobné částice odvozené z Ty elementů



Enzymy zajišťující zpětnou transkripci a integraci DNA do nových míst v genomu

Retroelementy u drozofily

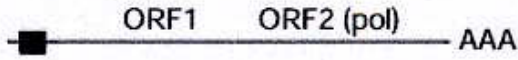
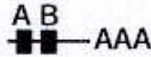
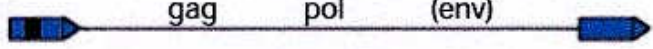
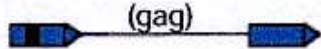
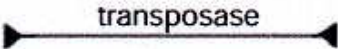

Copia elementy

Gypsy elementy

F, *G* a *I*-elementy

HeT-A, *TART* (telomere associated retrotransposons) – transpozice v telomerách, regenerace konců chromozomů ztracených při replikaci

4 třídy rozptýlených repeticí v genomu člověka

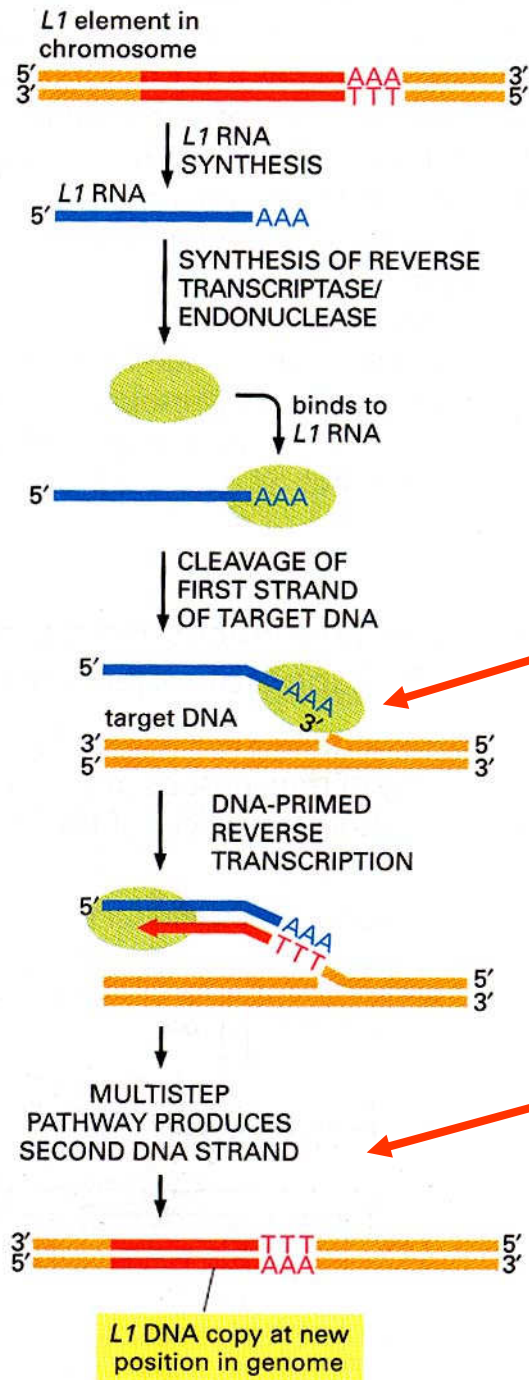
			Length	Copy number	Fraction of genome
LINES	Autonomous		6–8 kb	850,000	21%
SINEs	Non-autonomous		100–300 bp	1,500,000	13%
Retrovirus-like elements	Autonomous		6–11 kb	450,000	8%
	Non-autonomous		1.5–3 kb		
DNA transposon fossils	Autonomous		2–3 kb	300,000	3%
	Non-autonomous		80–3,000 bp		

Alu



Inaktivní nejméně 50 milionů let

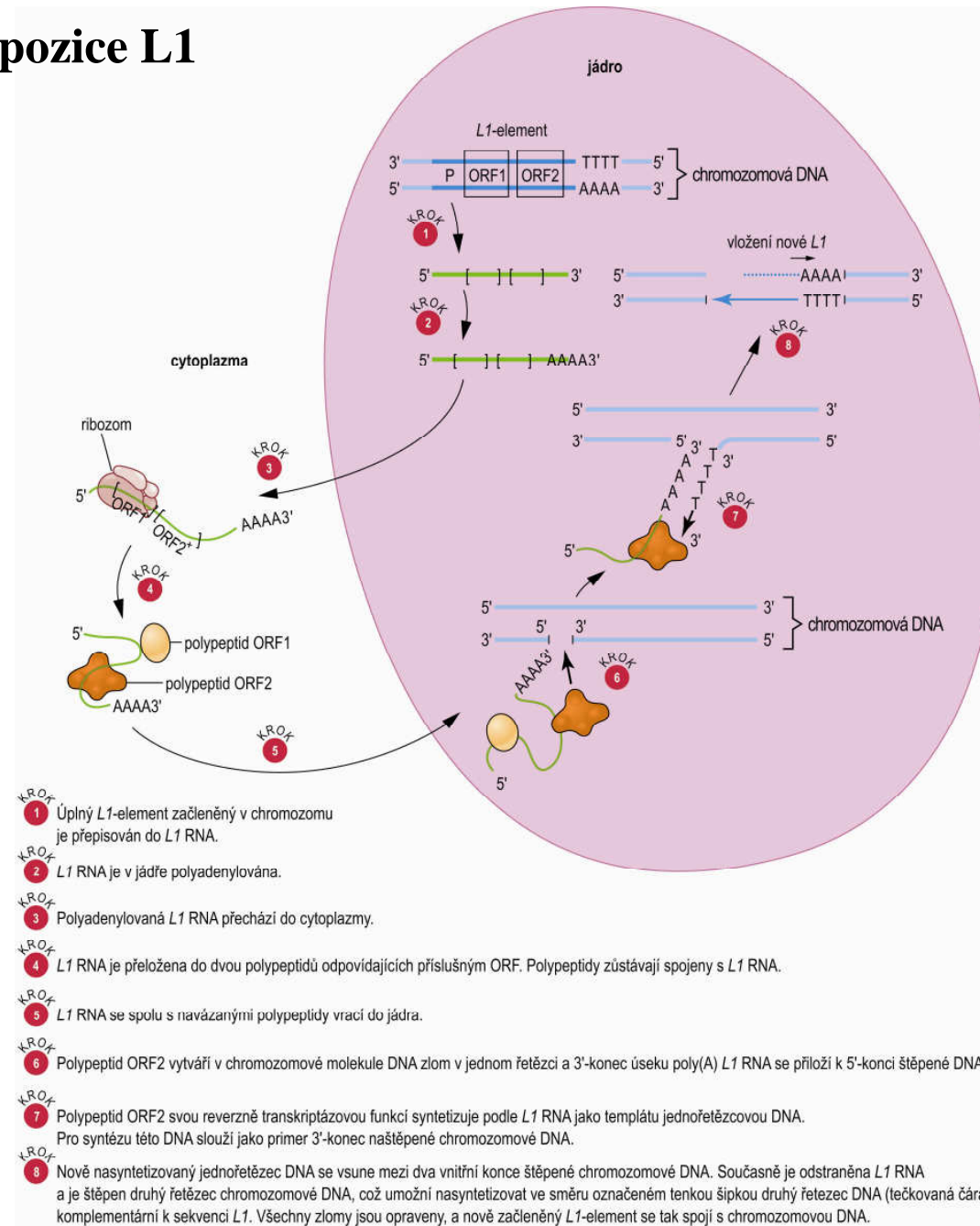
Transpozice neretrovirových retrotranspozonů (sekvence LINE 1) místně specifickou rekombinací



Iniciační fáze, při níž endonukleáza (součást RT) připojená na L1 RNA štěpí cílovou sekvenci - uvolněná 3'OH skupina funguje jako primer pro reverzní transkripci - vytváří se ssDNA napojená na cílovou DNA.

V dalším kroku se vytvoří dsDNA, která se začlení do cílového místa

Mechanismus transpozice L1 v lidském genomu



Vznik upravených pseudogenů



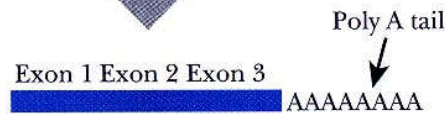
Původní funkční gen



Primary transcript



mRNA



Sestřih a připojení polyA



cDNA

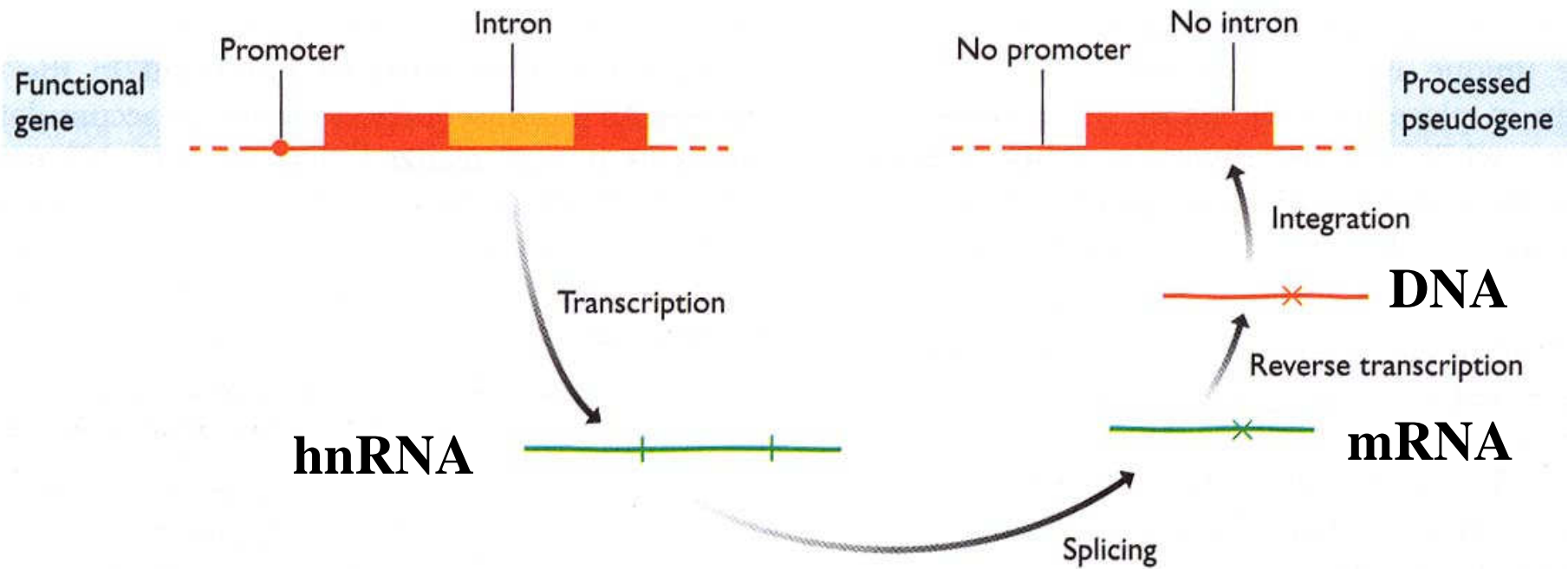


Reverzní transkriptáza některé transkripty konvertuje na cDNA



Vytvořená cDNA je začleněna do jiných míst genomu - vzniká pseudogen, který není funkční v důsledku chybění promotoru

Upravené pseudogeny vytvořené reverzní transkripcí



Retrotranspozice „homing retro-intronů“ skupiny II

Intron začleněný v jedné z kopií genu



kopie genu neobsahující intron



TRANSCRIPTION

mRNA

TRANSLATION

Vytvoření enzymu s dvojí aktivitou



ENDONUCLEASE ACTIVITY

Štěpení genu v cílovém místě

REVERSE TRANSCRIPTASE ACTIVITY

Intron

dsDNA kopie intronu

dvouřetězcový zlom



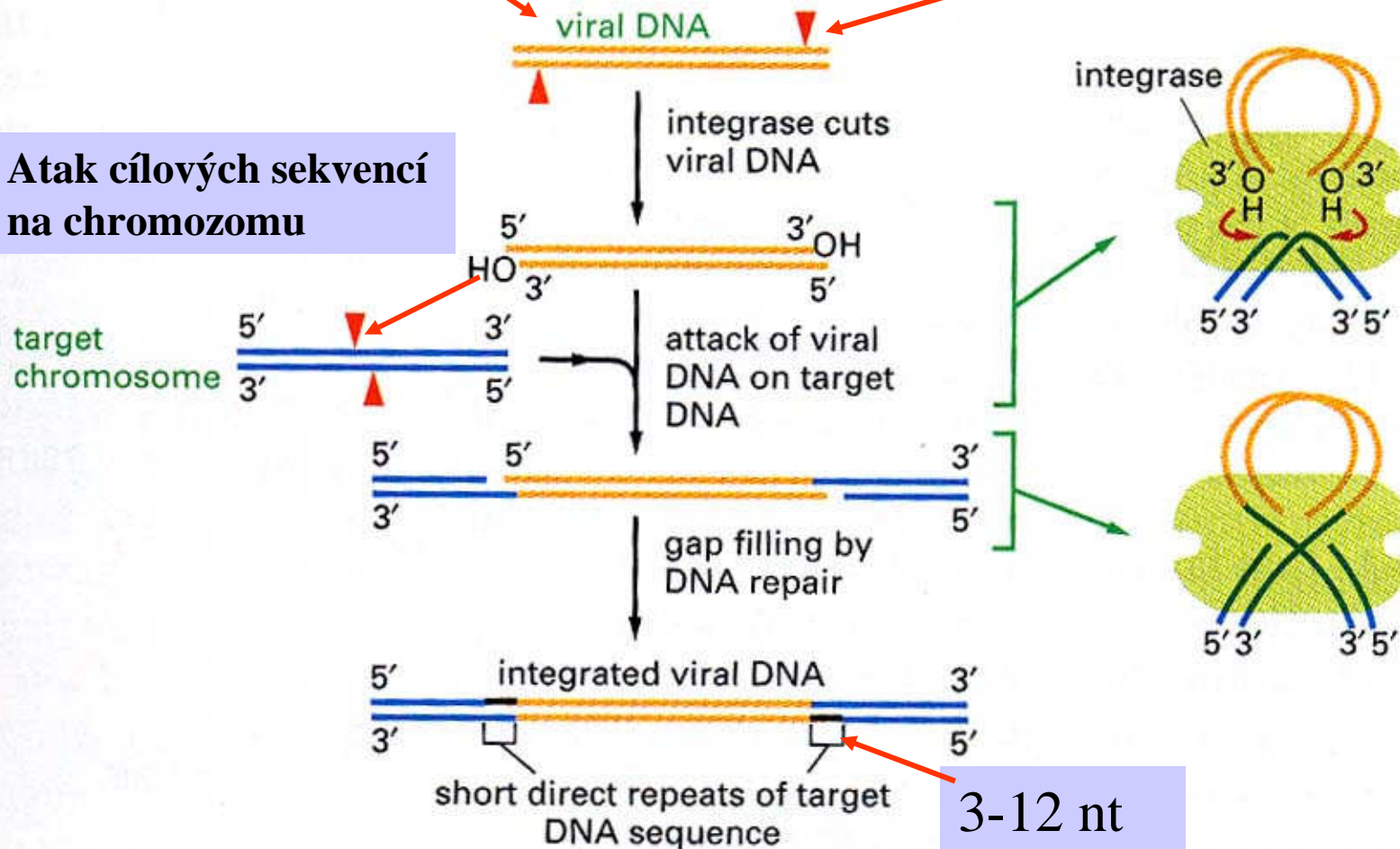
Transpozice retrovirů nebo retrotranspozonů místně-specifickou rekombinací

RNA

RT

Štěpení konců
transpozonu integrázou

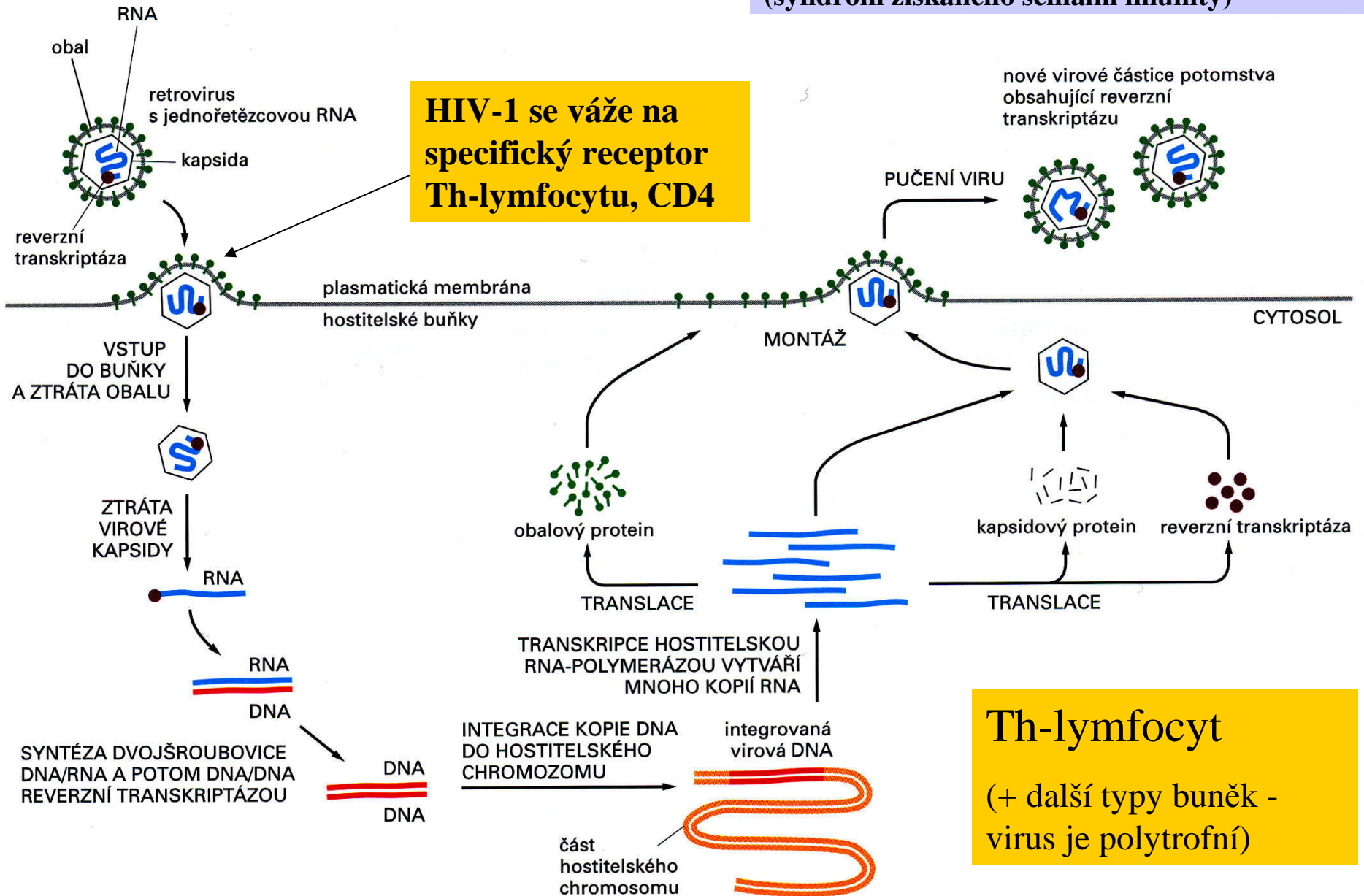
Atak cílových sekvencí
na chromozomu



3-12 nt

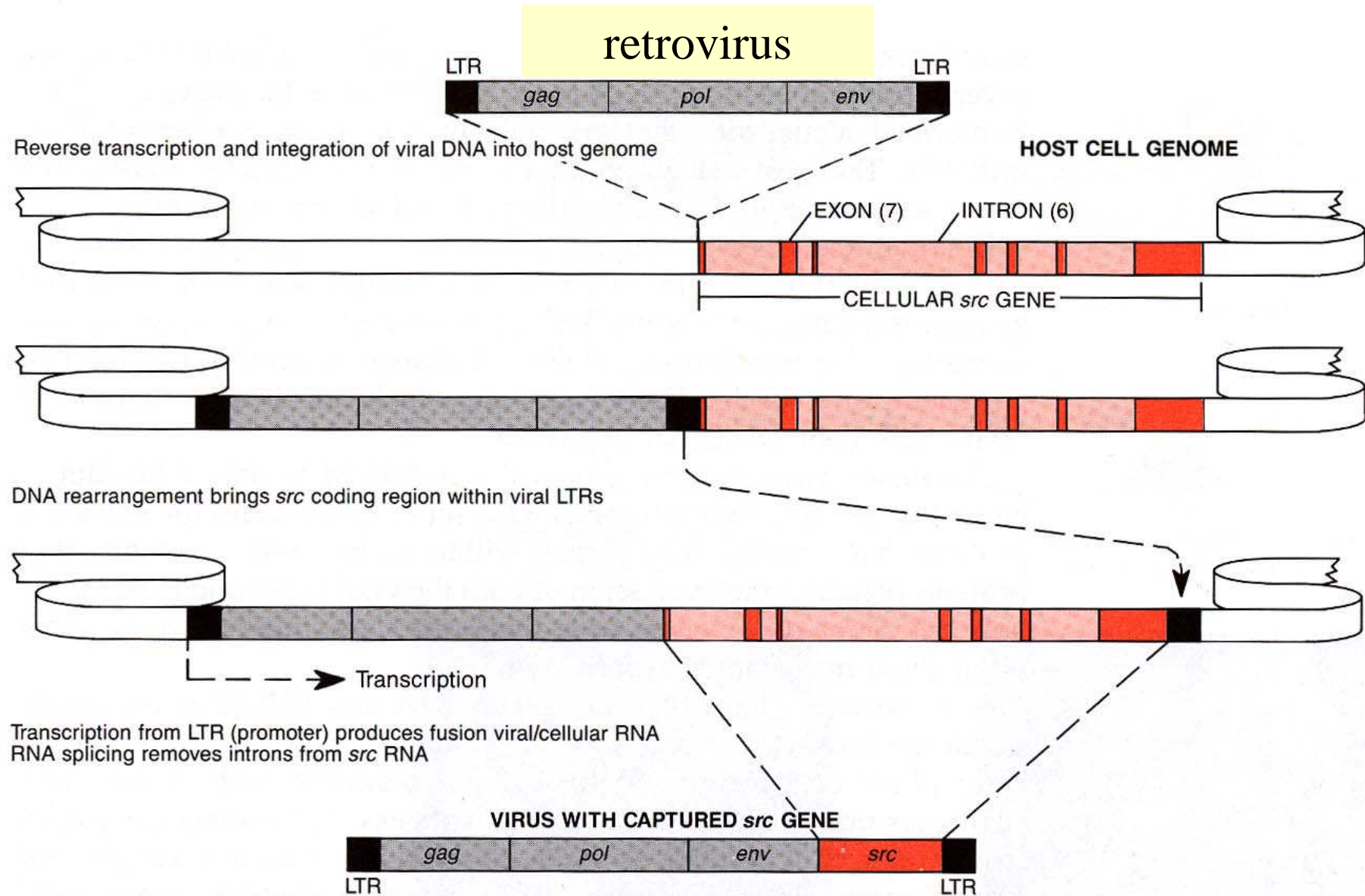
HIV - Human immunodeficiency virus
AIDS = acquired immune deficiency syndrom
(syndrom získaného selhání imunity)

Životní cyklus retroviru



Th-lymfocyt
 (+ další typy buněk - virus je polytrofní)

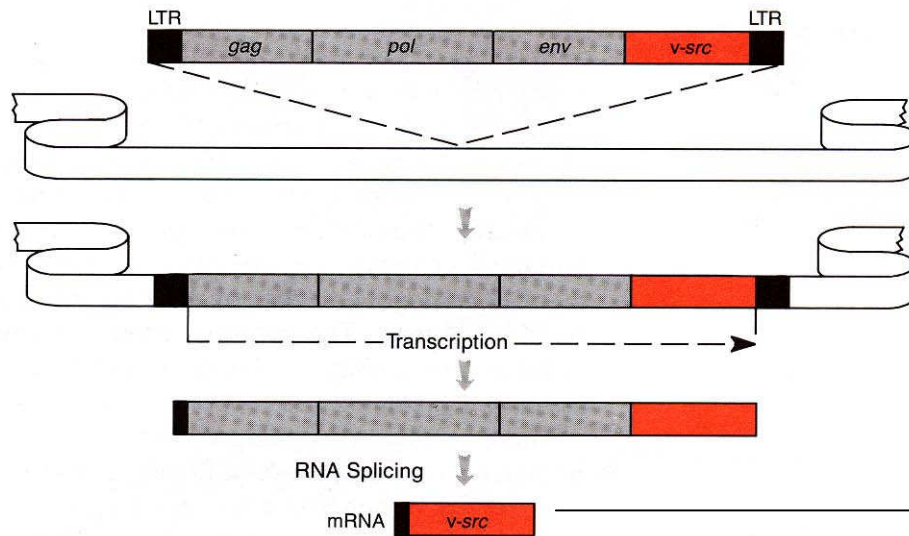
Vznik retrovirů přenášejících onkogeny



Capture of the Cellular *src* Oncogene by a Progenitor Rous Sarcoma Virus

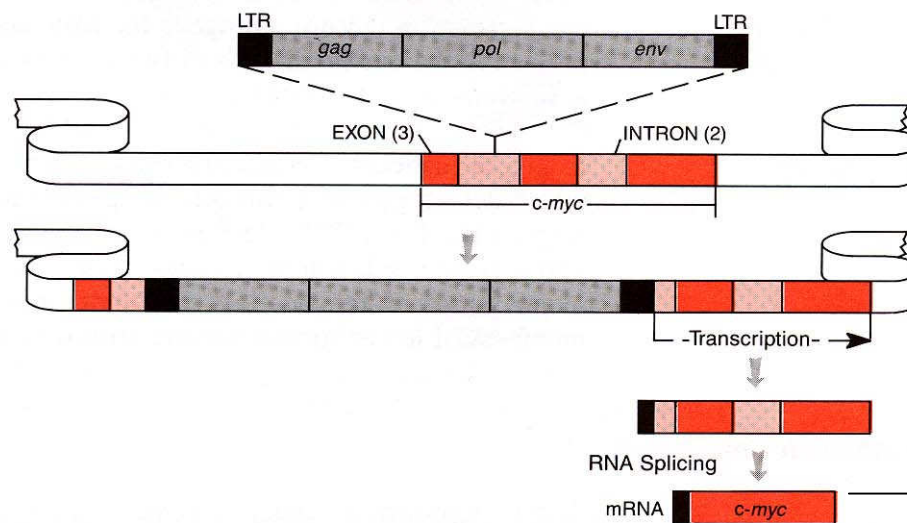
Akutně a pomalu transformující retroviry

ACUTE TRANSFORMATION: ROUS SARCOMA VIRUS (RSV)



Transdukce onkogenu akutně transformujícími retroviry

CHRONIC TRANSFORMATION: AVIAN LEUKOSIS VIRUS (ALV)



Inzerční aktivace protoonkogenu pomalu transformujícími retroviry

Acute vs. Chronic Transformation by Retroviruses

nádor

Vznik „odpadní“ DNA jako důsledek transpozice a následné inaktivace mobilních elementů

mobilní elementy



po mnoha generacích

