

Mobilis genetikai elemek

Transzpozíció

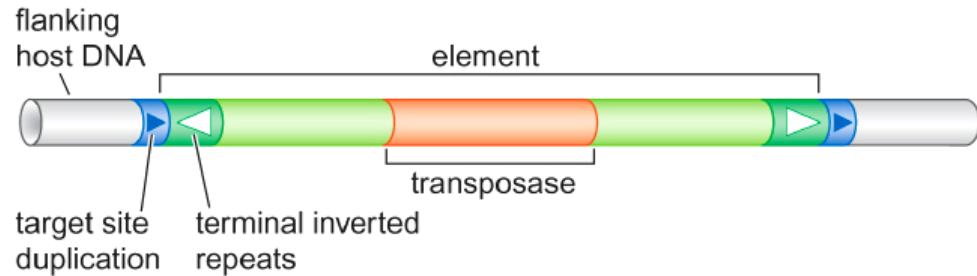
- DNS áthelyeződés
 - Traszpozáz
 - Reverz transzkriptáz
- Mutációk, kromoszóma átrendeződések
- Genom: eltérő arányban pl.: ember, kukorica sok >50%,
Drosophila, élesztő kevés

Csoportosítás

- DNS: IS elemek, transzpozonok

- Konzervatív
- Replikatív transzpozíció

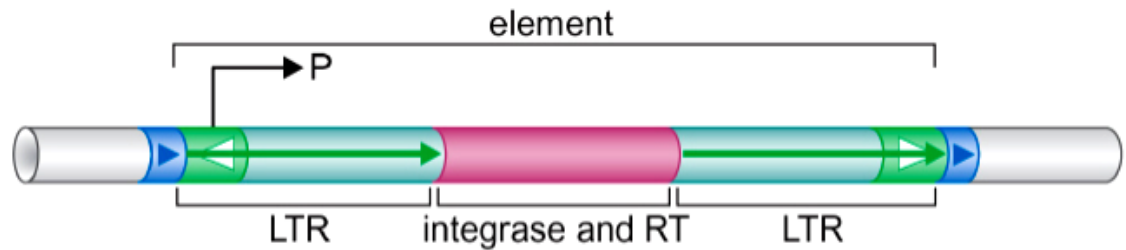
a DNA transposons



- Retroelemek: vírus szerű vagy LTR

polyA-retrotranszpozonok vagy nem vírus retrotranszpozonok

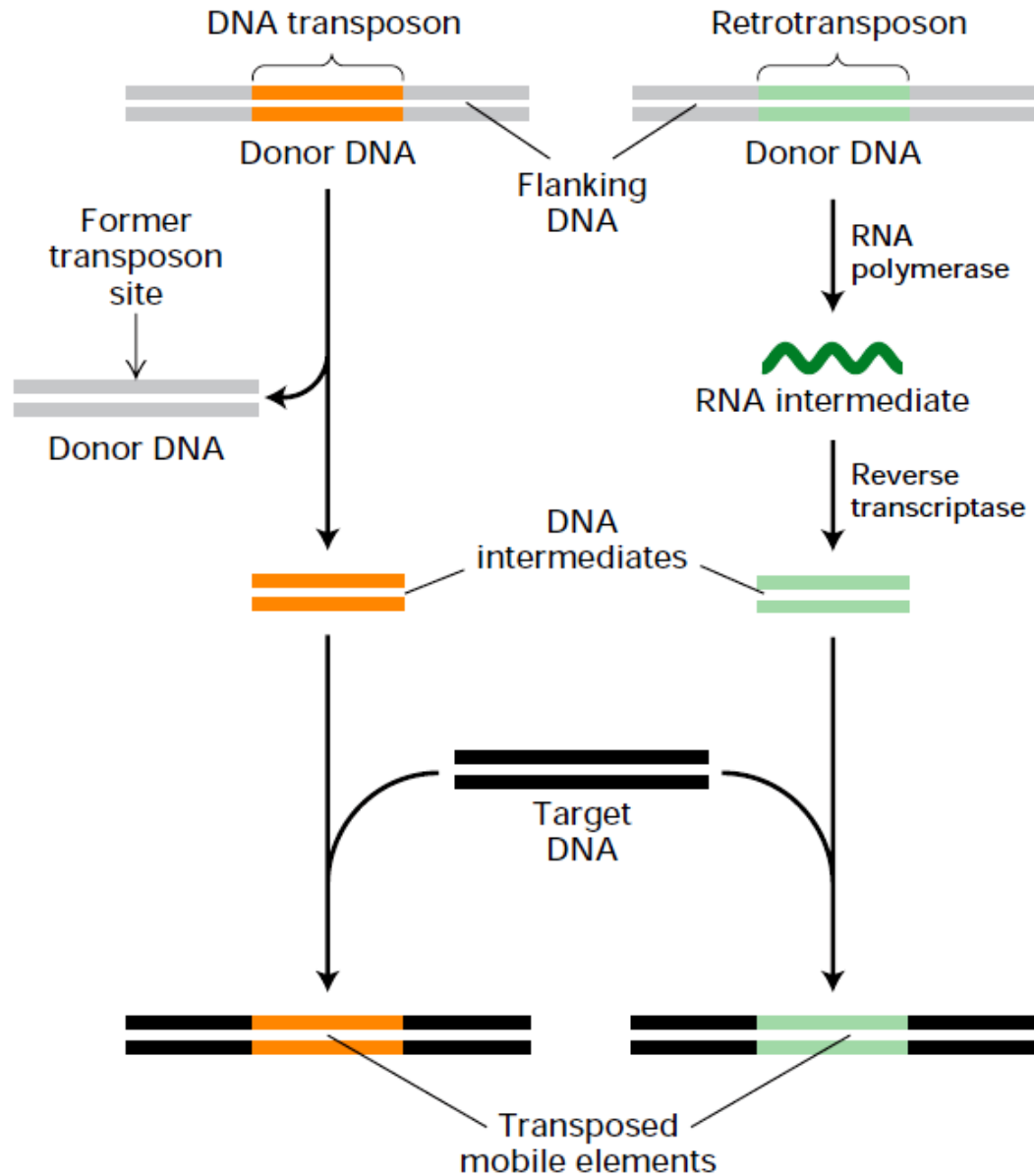
b viral-like retrotransposons/retroviruses



c poly-A retrotransposons

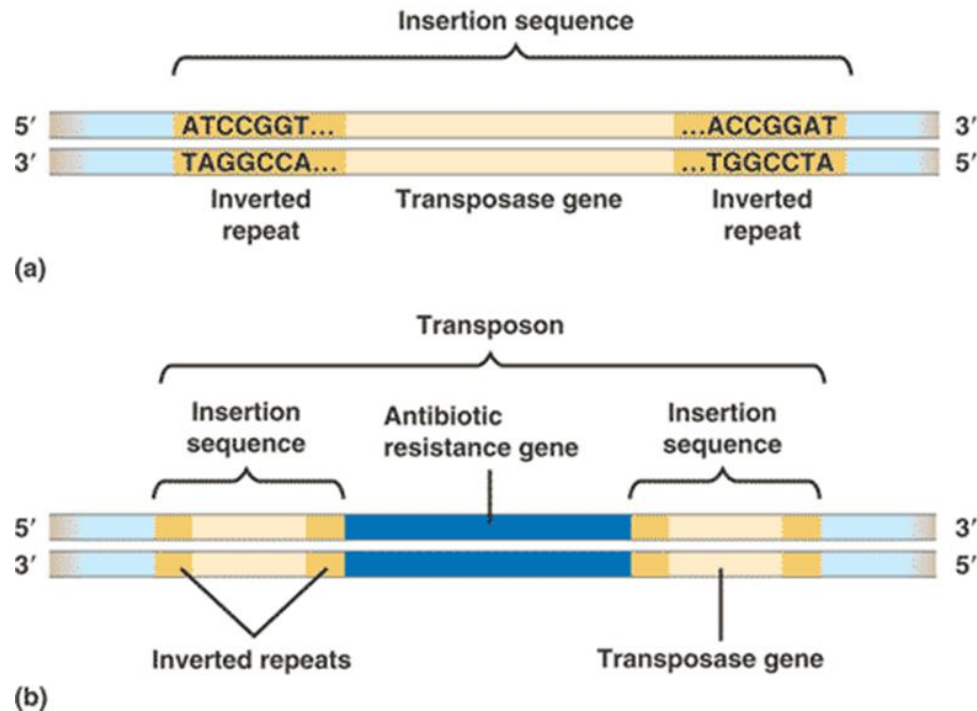


Transzpozíció kétféle intermediérral



Bakteriális transzpozonok:

- Inszerációs szekvenciák (IS elemek)
- Összetett transzpozonon
- Tn3 transzpozonok
- Transzpozázibilis fágok (Mu fág)

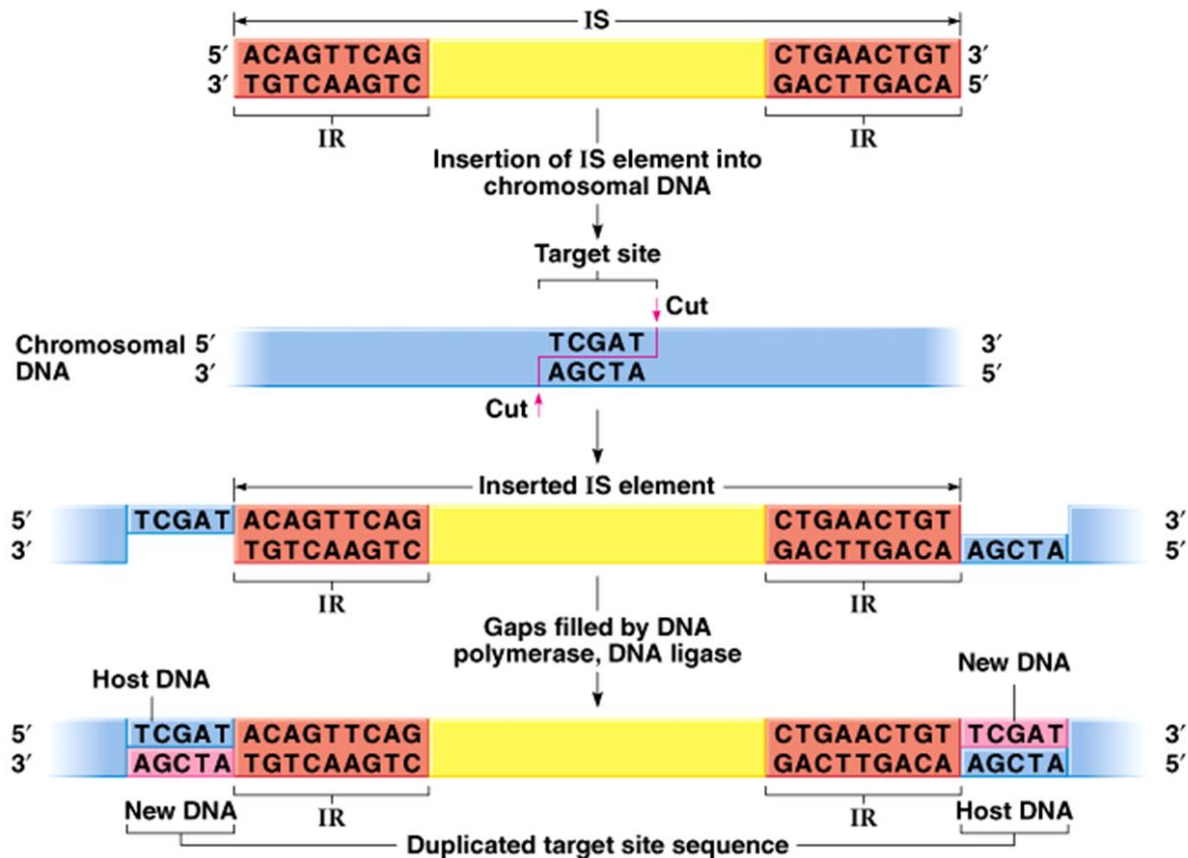


IS:insertional sequences

IR: rekombináz felismerőhelye

Transzpozíció: 10^5 – 10^7 sejt/generáció

IS elemek



A prokarióták inszerciós elemei

Insertion sequence	Normal occurrence In <i>E. coli</i>	Length (bp)	Inverted repeat* (bp)
IS1	5–8 copies on chromosome	768	18/23
IS2	5 copies on chromosome; 1 on F	1327	32/41
IS3	5 copies on chromosome; 2 on F	1400	32/38
IS4	1 or 2 copies on chromosome	1400	16/18
IS5	Unknown	1250	Short
γ - δ (TN1000)	1 or more copies on chromosome; 1 on F	5700	35
pSC101 segment	On plasmid pSC101	200	30/36

- több példányban fordulnak elő a genomban

- nagyságuk 1000 bp körüli

- végükön 10-40 bp fordított ismétlődés (inverted repeat) található, mely szükséges az áthelyeződéshez.

- normál esetben legalább egy gént (transzpozáz) hordozniuk kell, mely terméke a transzpozíciót (kivágódást és beépülést) meghatározza - transzpozáz enzim

Transzpozonok

- Egyszerű (Class II)

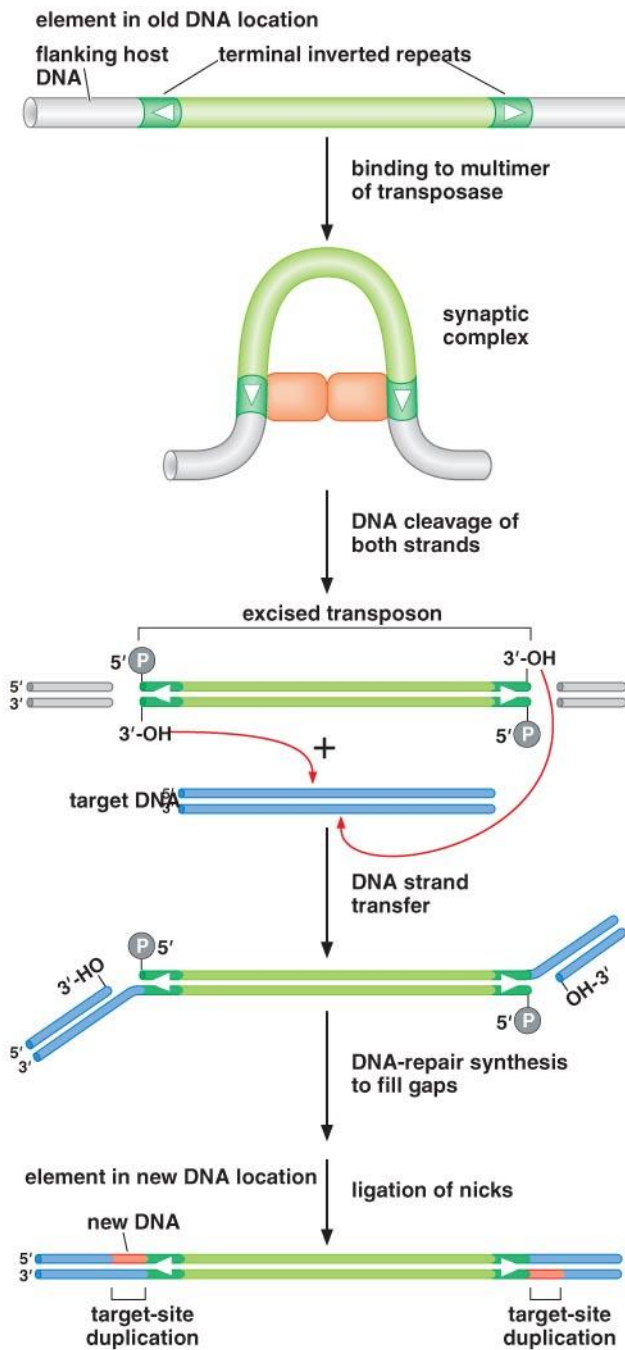


- IR szekvenciák határolják (pl. Tn3, phage Mu).
Mechanizmus: replikatív transzpozíció

- Összetett (Class I)



- 2 IS elem határolja (pl. Tn5, Tn10).
Mechanizmus: „cut and paste”



Copyright © 2008 Pearson Education, Inc., publishing as Pearson Benjamin Cummings.

Kivág - beilleszt mechanizmus

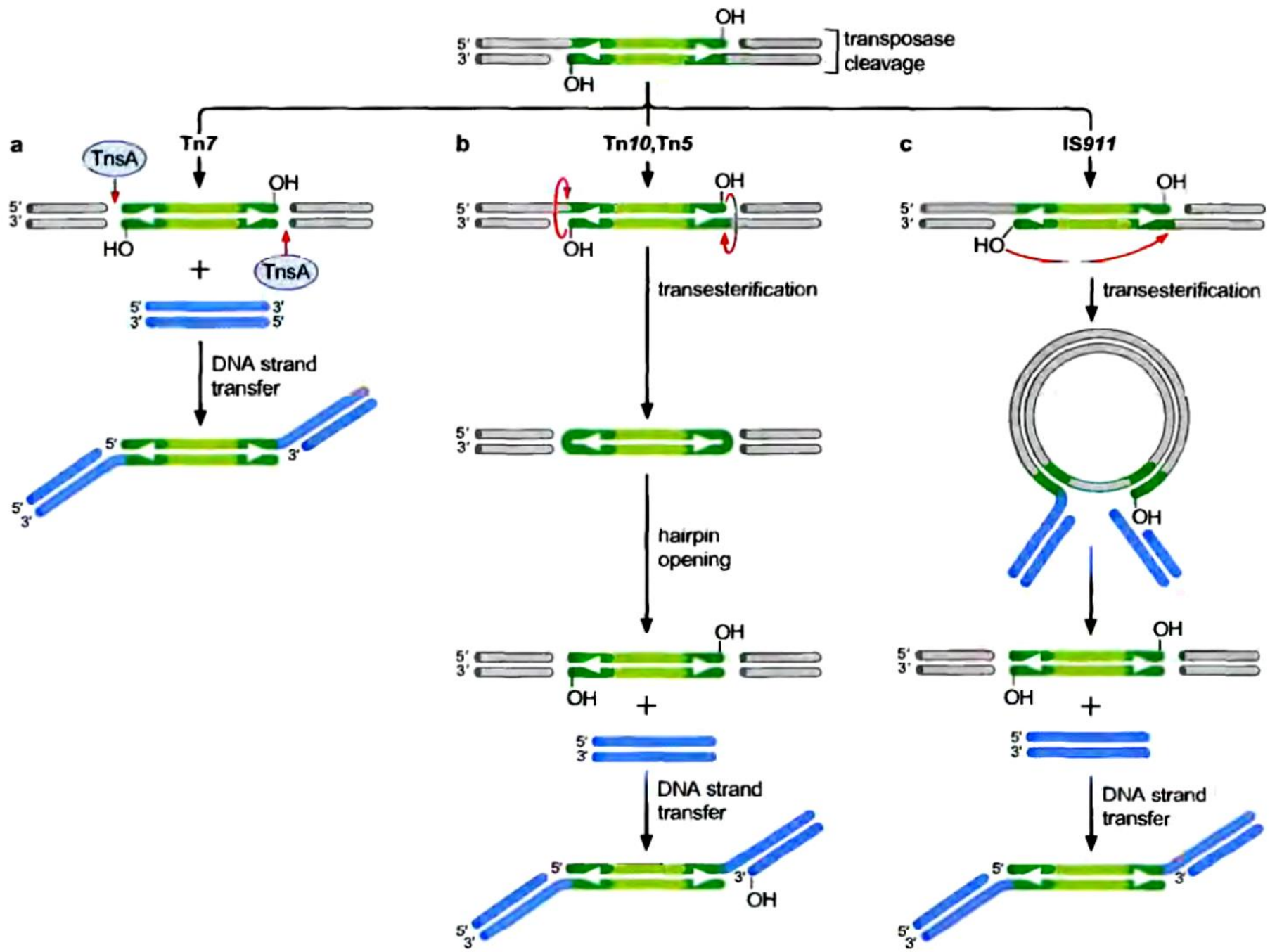
Cut-and-paste

1., Első lépésként a transzpozáz eltolja két bemetszést ejt a target DNS-en (mint egy restrikciós enzim).

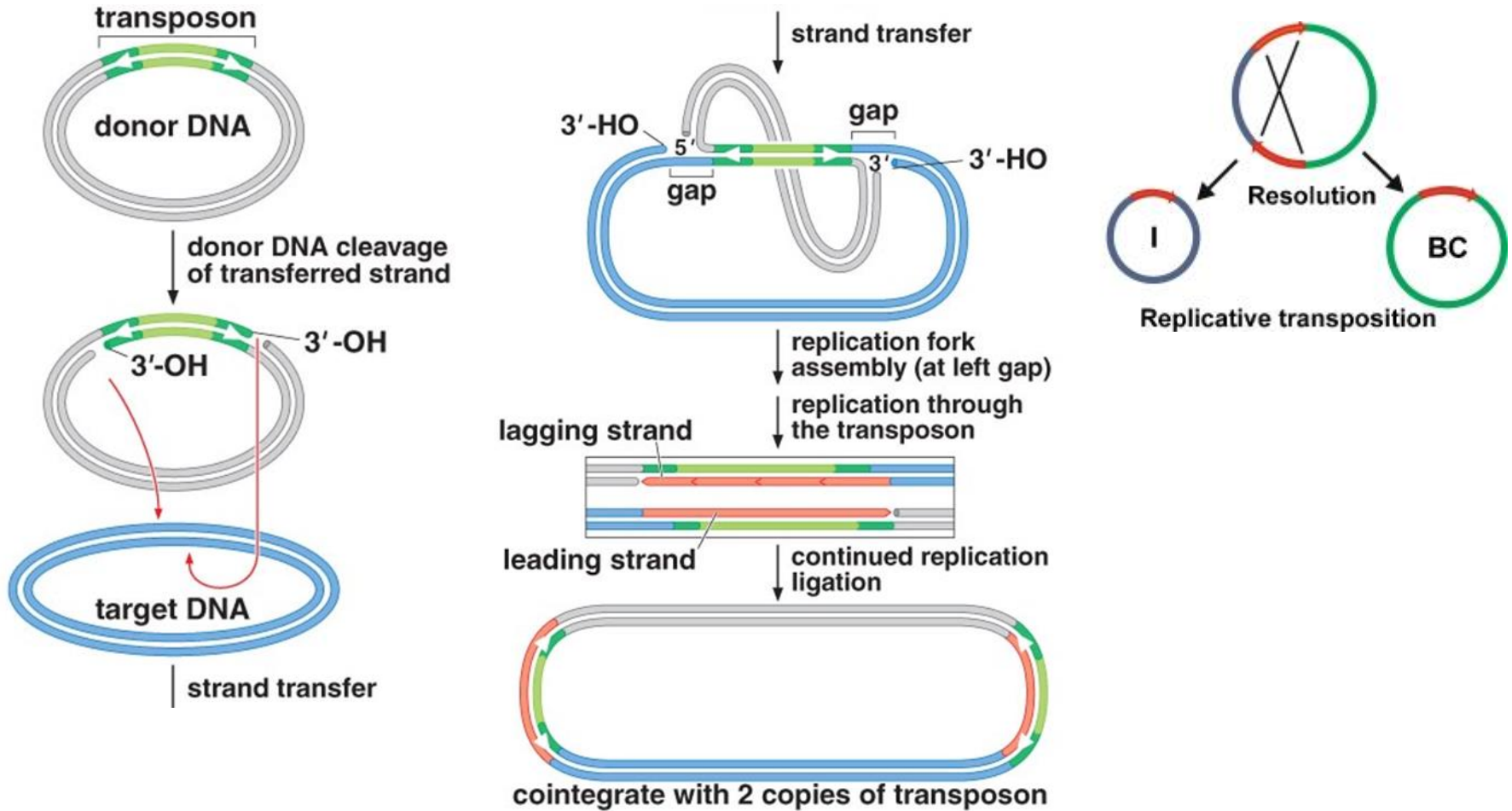
2., Kivágja a transzpozont eredeti helyéről és a transzpozon beékelődik a túlnyúló végek közé.

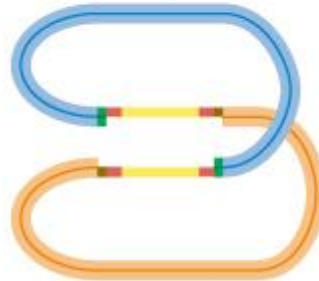
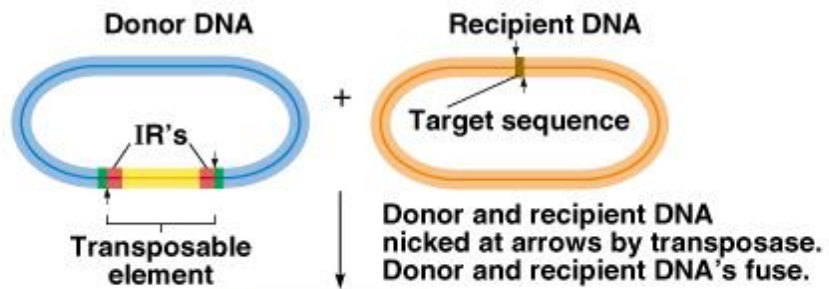
3., Az egyszálú túlnyúló végek templátul szolgálnak a DNS repair számára, és a polimeráz feltölti a hiányzó szakaszt.

Ez target hely duplikációt eredményez az elem két oldalán. Minden elemre jellemző az áthelyeződés során keletkező duplikáció mérete.

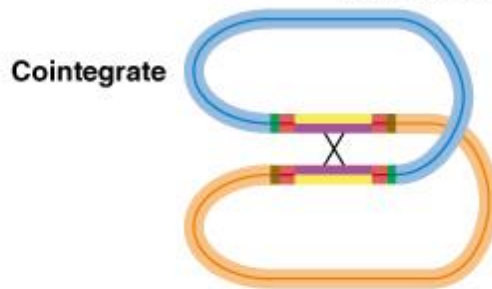


Replikatív mechanizmus





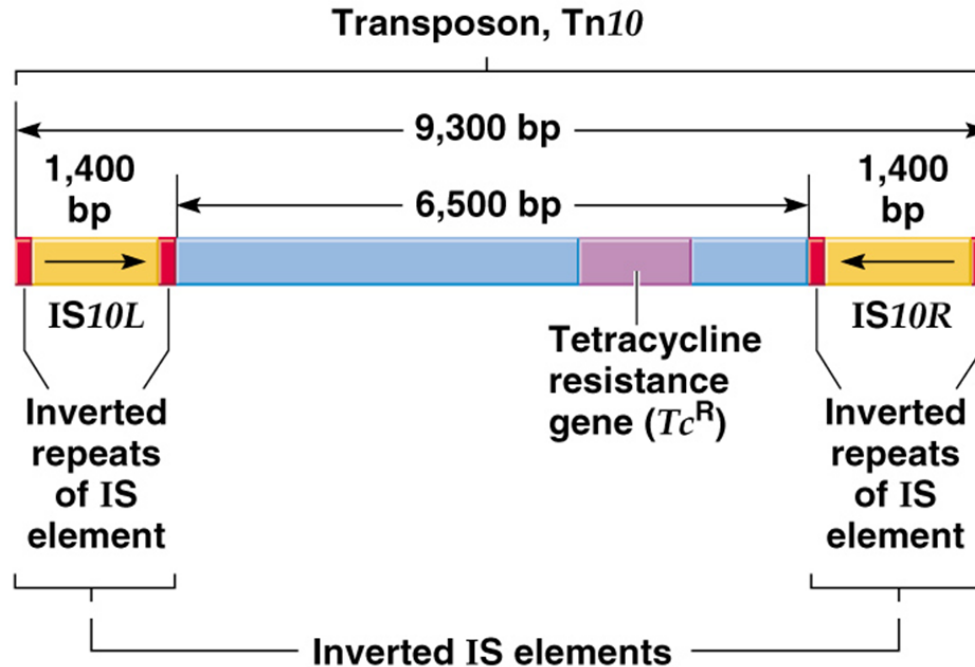
Single-stranded regions filled in by DNA replication, resulting in copying of the transposon and target sequence. The molecule produced is a cointegrate.



Resolution: recombination between duplicated transposable elements generates two DNA's, each with a transposable element.



Tn10



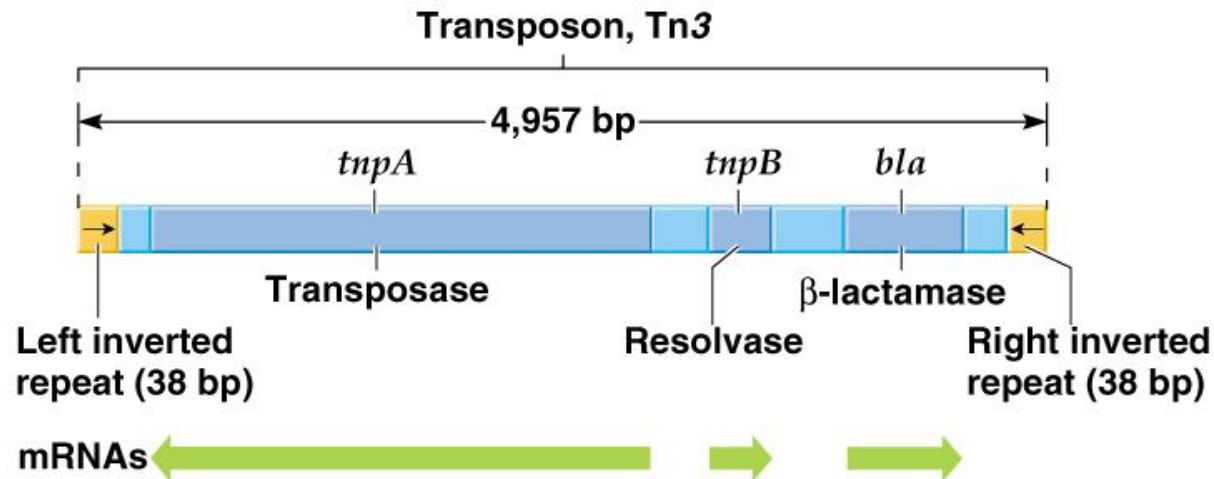
Összetett transzpozon

Transzpozált és tetraciklin rezisztenciát kódol

Antisense RNS-sel szabályozza a transzpozíciók számát

Általában a DNS replikációhoz kötve ugrik: amikor a Tn10 hemimetilált a DNS szintézis során, metilációs hely a promóterben és a transzpozáz kötőhelyben is

Tn3 transzpozon



Egyszerű/ nem összetett transzpozon

Nincs IS elem, csak IR

3 gént kódol:

Transzpozáz

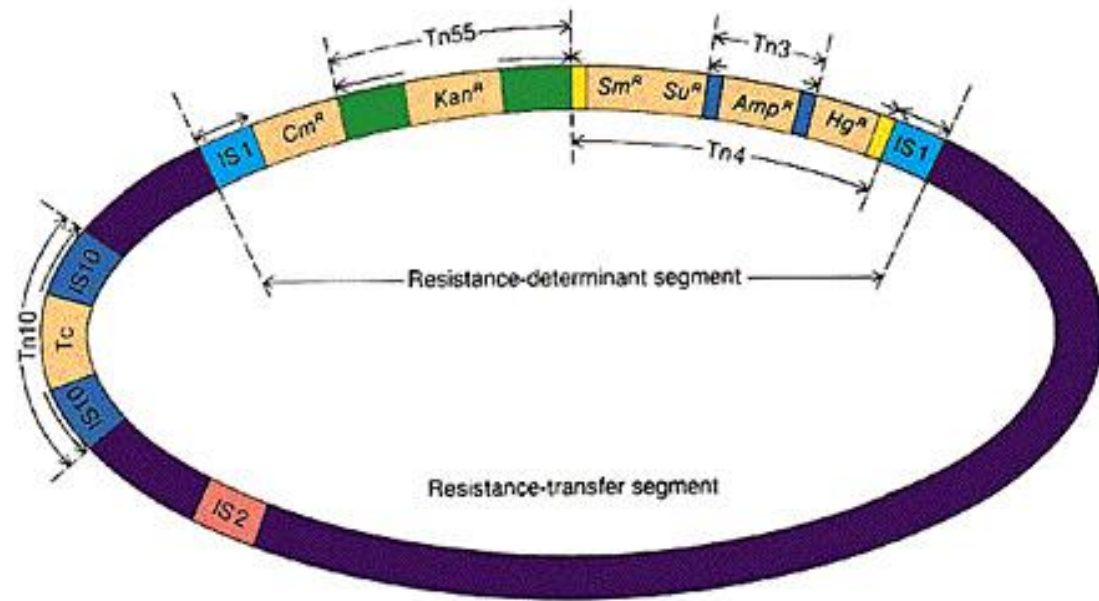
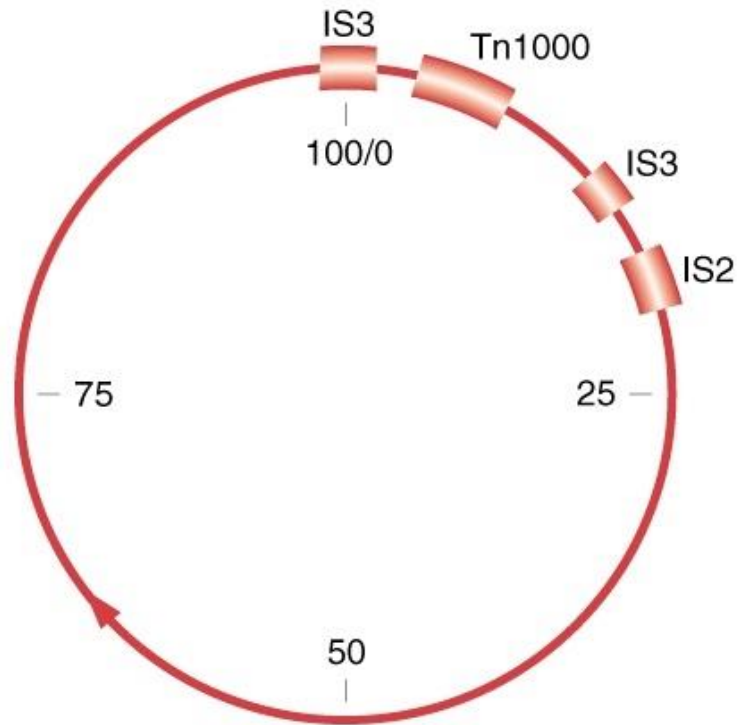
Antibiotikum rezisztencia

Rezolváz – rekombináció



replikatív

A plazmidok inszerciós elemei



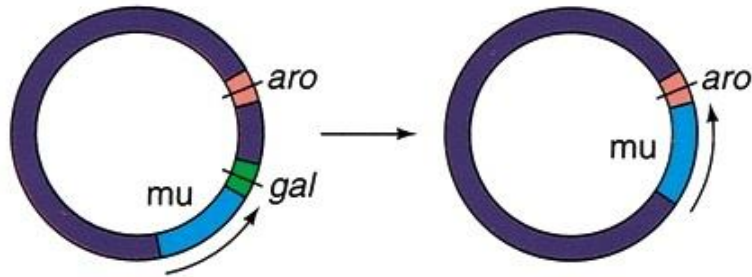
Az F' plazmid is inszerciós szekvencia.

Egy R-plazmid szerkezete: antibiotikum szigeteket hordoz.

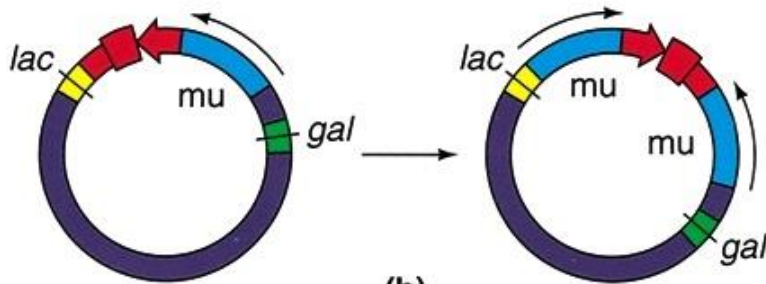
Mu fág

- Transzpozabilis fág (Lizogén bakteriofág és transzpozon)
- Kb. 35 gént kódol MuA-transzpozáz, MuB-ATP-áz, segíti a MuA-t
- Target specifitása kicsi, de nem transzportálódik saját magába

A *mu* („mutator”) fág



(a)



(b)

A 36 kb hosszú *mu* fág olyan temperált vírus, mely sok hasonlóságot mutat az IS elemekkel. Bárhová inszertálódni képes a bakteriális vagy plazmid genomba miáltal gyakran okoz mutációkat. Az inszerció replikatív transzpozícióval megkettőződhet.

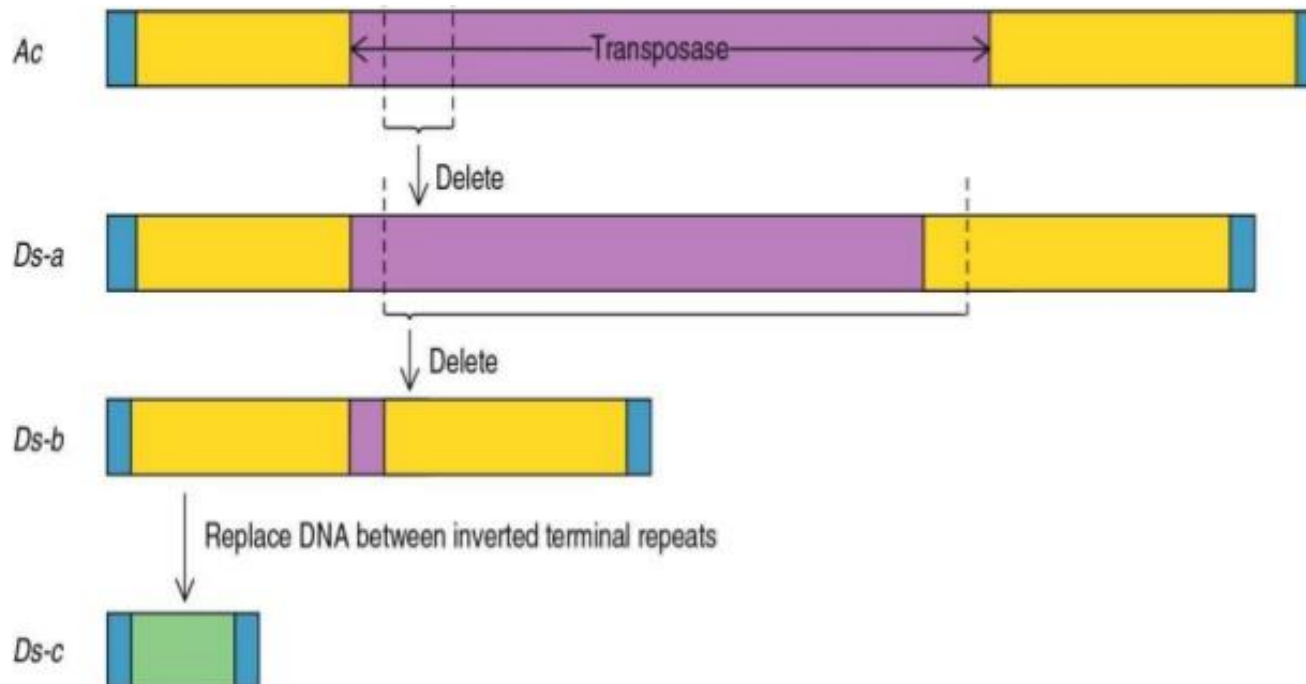
Két *mu* fág közé eső bakteriális DNS darab transzpozonként képes áthelyeződni a genomban, akár kromoszóma és plazmid között is. A fág a mozgása során kromoszóma átrendeződéseket (deléció, inverzió) képes okozni a baktérium kromoszómán.

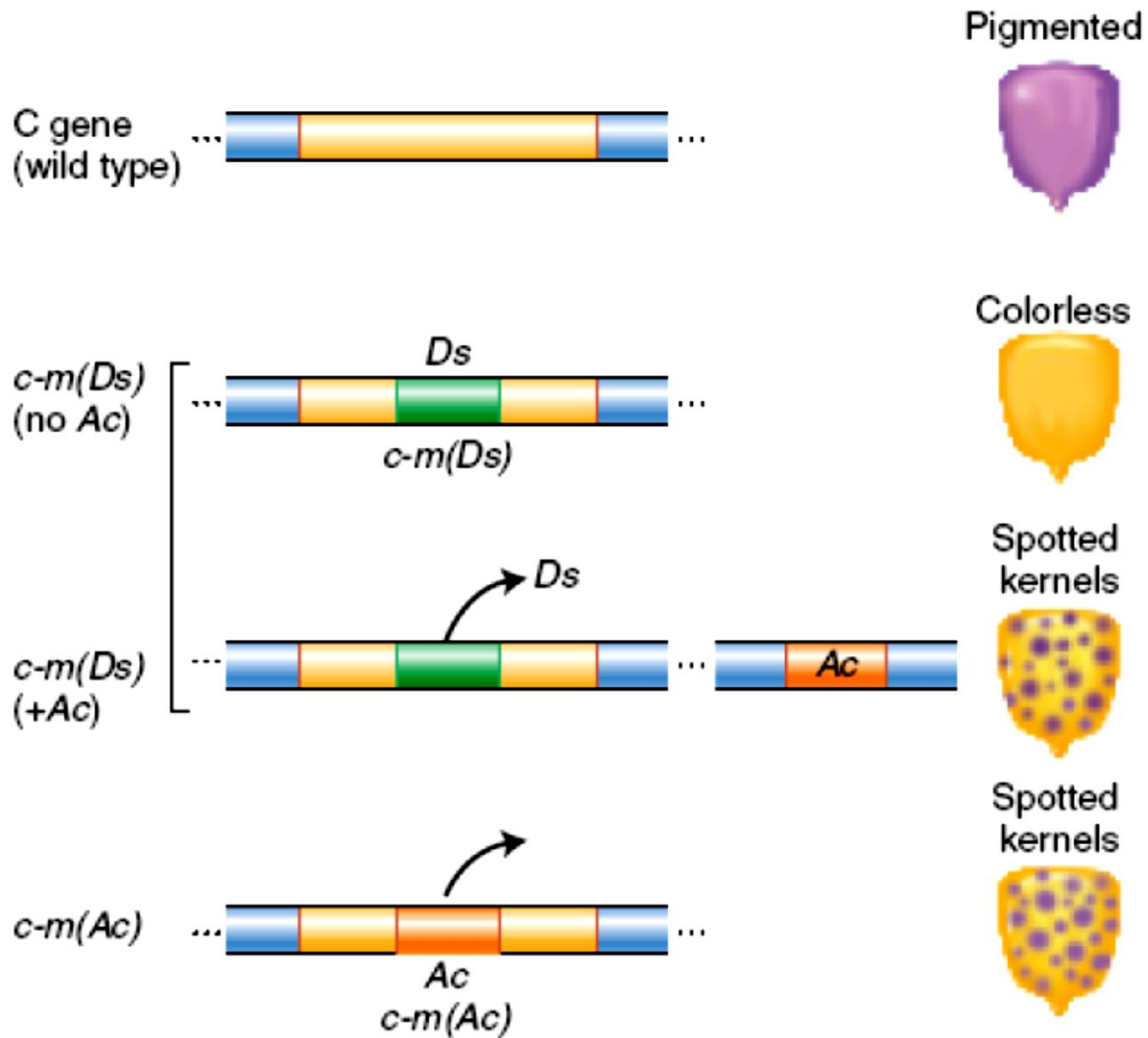
Eukarióta transzpozonok

- *C. elegans*: Tc1 (mariner)
- *Drosophila*: P elem, Mariner (Tc1)
- Kukorica Ac, Ds - McClintock

Autonóm ↔ nem autonóm elemek

- Pl.: kukorica Ac, Ds elemek
- Helper transzpozon

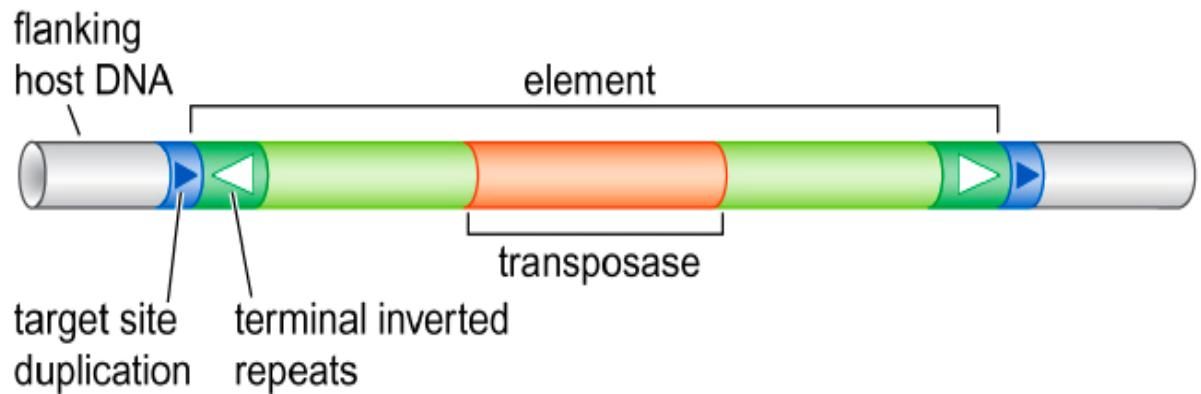




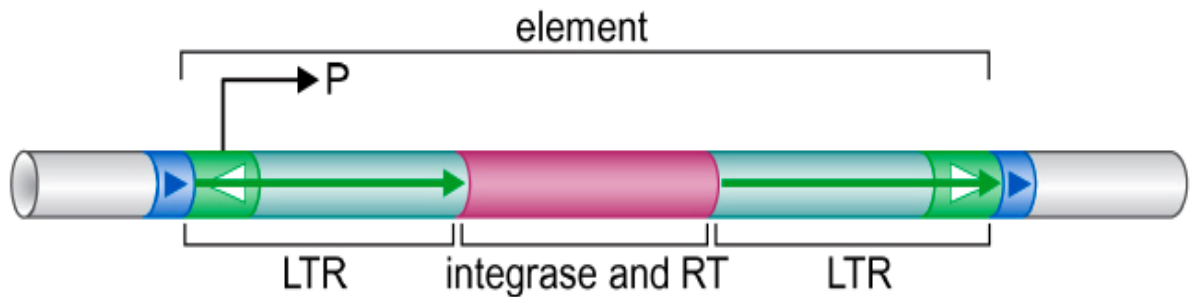
Retroelemek

- Retronok: prokariótákban
- Retropozonok: nincs LTR (long terminal repeat)(=nem LTR retrotranszpozon, nem vírus szerű, polyA)
- Retrotranszpozonok: van LTR (LTR retrotranszpozon, vírus szerű)
- Retrovírusok

a DNA transposons



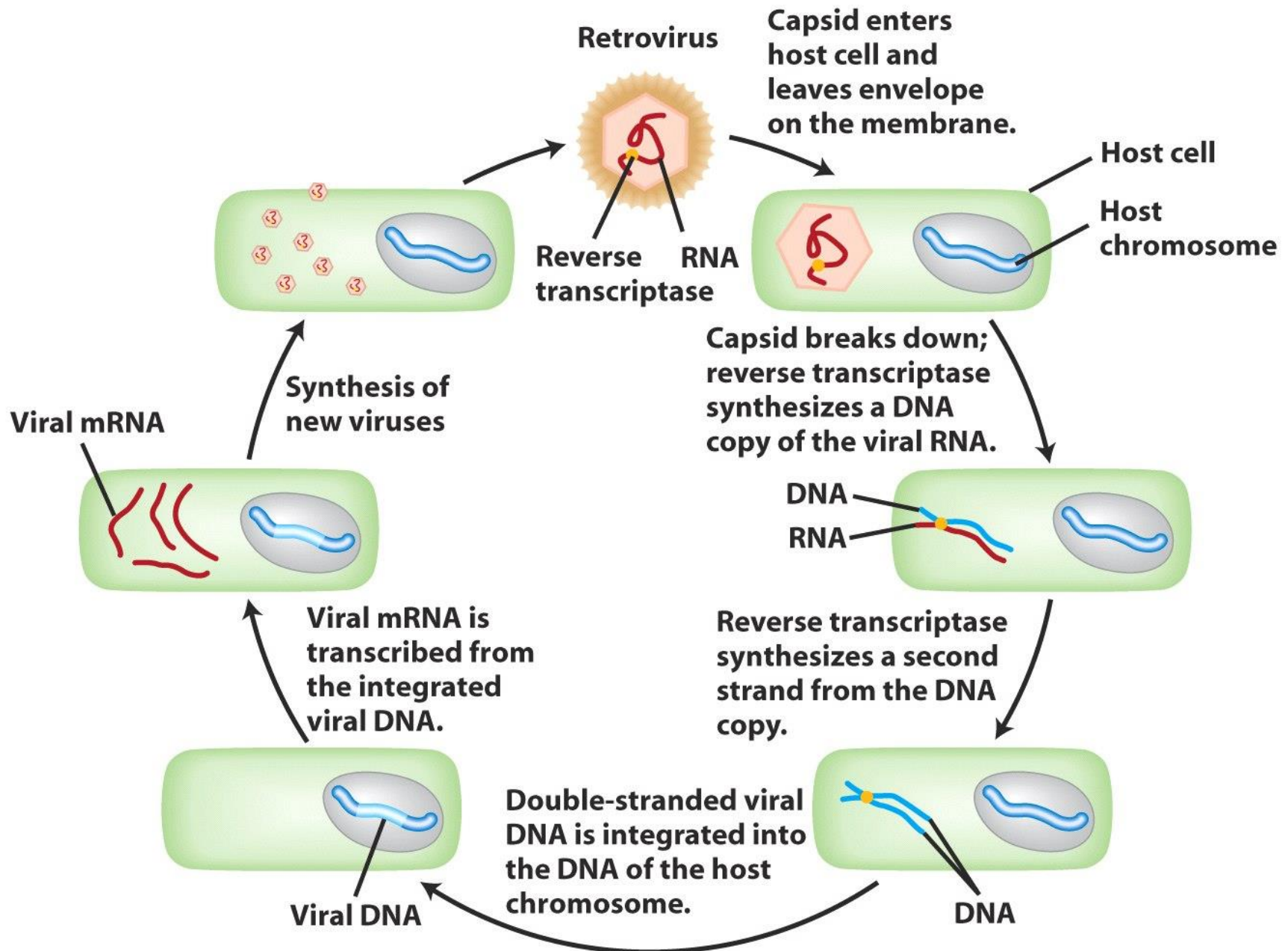
b viral-like retrotransposons/retroviruses

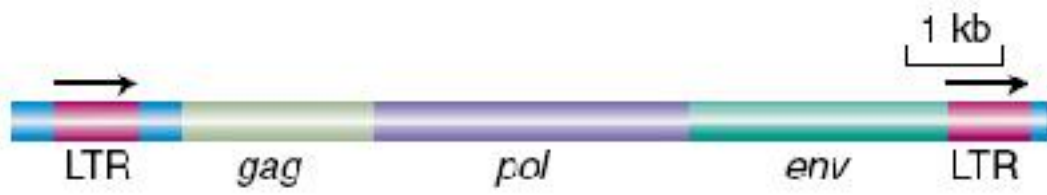


c poly-A retrotransposons



A retrovírosok élelciklusa



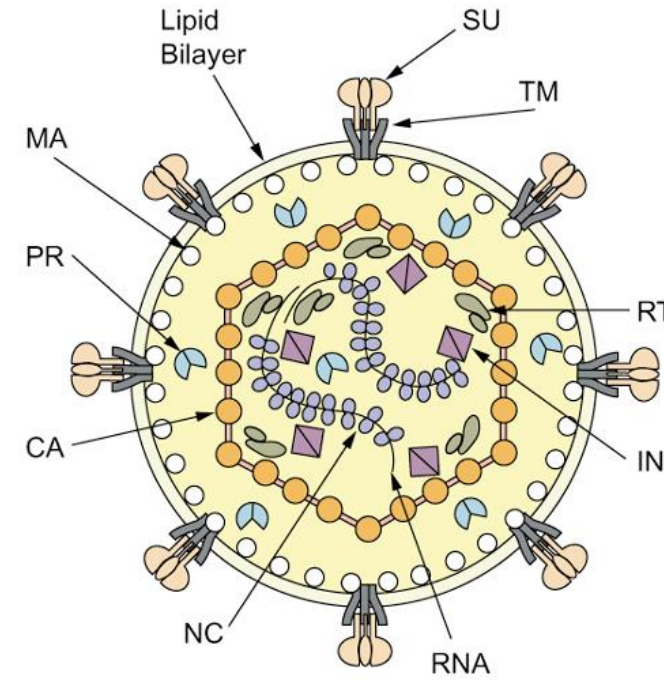
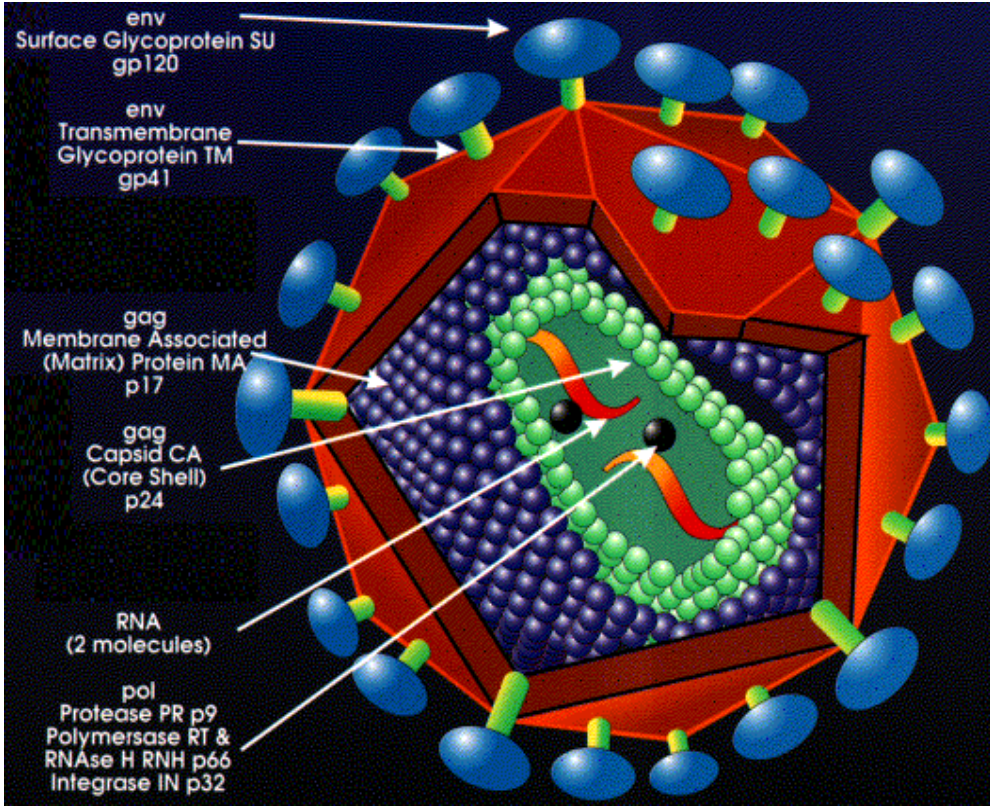


env:

gag

pol

(pro)



Retrovírus génjei

Gén

Funkció

gag = group specific antigen (internal structural proteins)

matrix (MA),
capsid (CA),
nucleocapsid (NC)

binds envelope, organization
protects genome and enzymes
chaperones RNA, buds

pol = polymerase enzymes

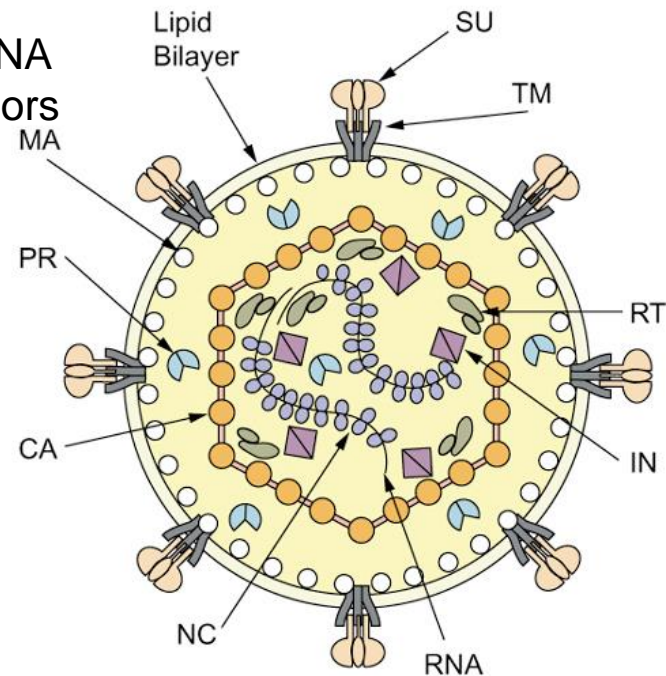
reverse transcriptase +
RNAase H (RT)
protease (PR)
integrase (IN)

RNA to DNA
degrades template RNA
maturation of precursors
provirus integration

env = envelope proteins

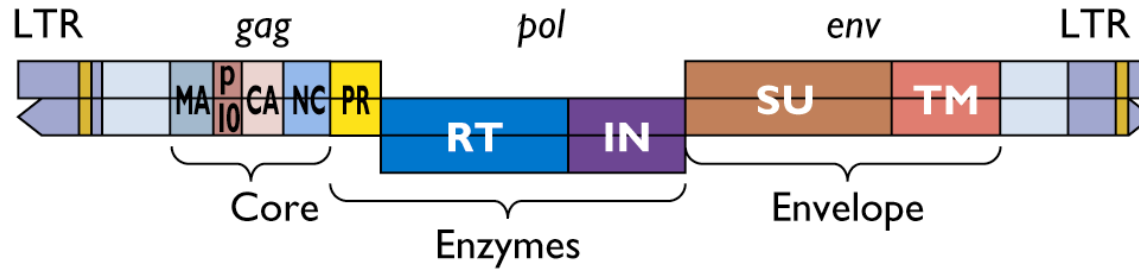
surface glycoprotein (SU)
transmembrane protein (TM)

receptor binding
virus-cell fusion

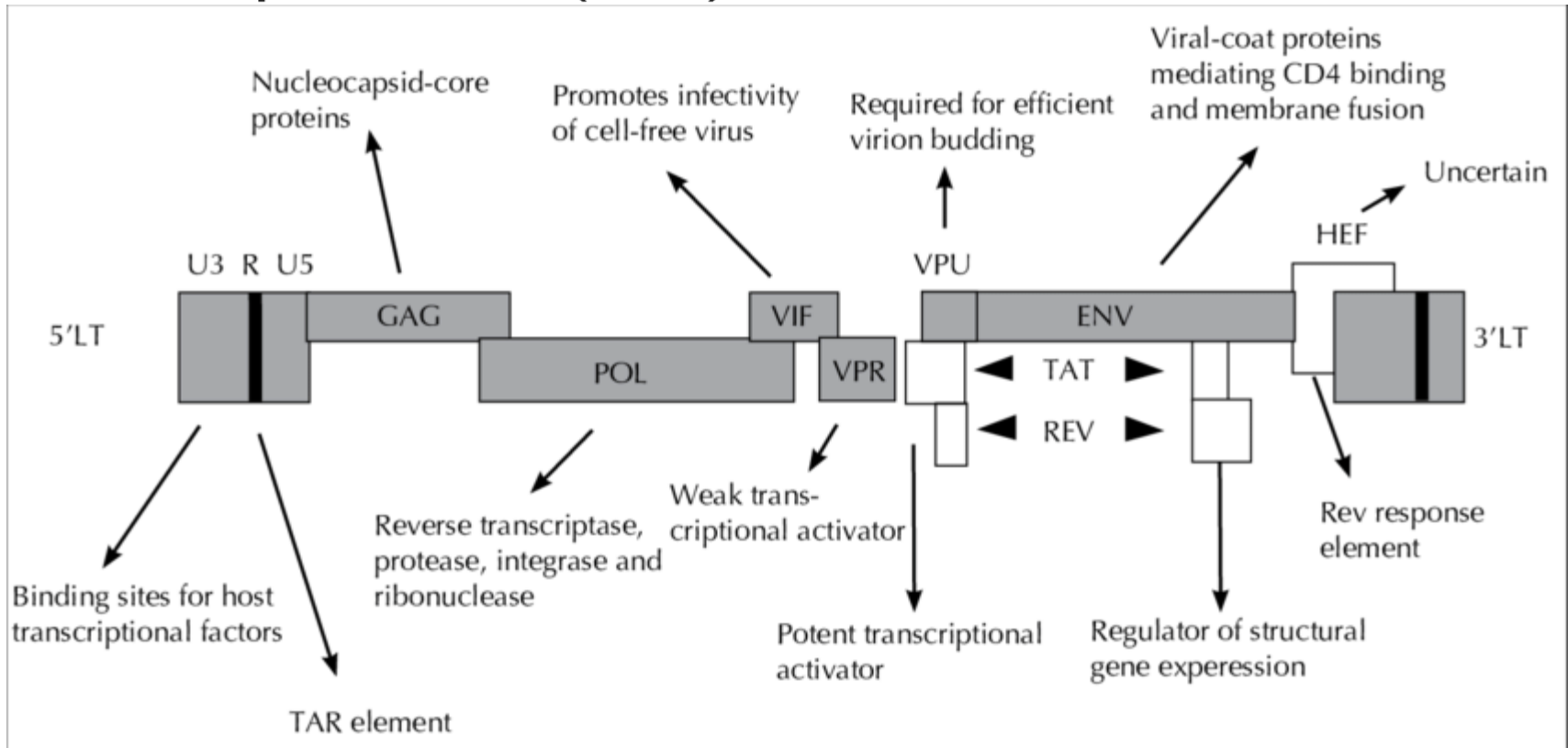


Retrovirus genomok

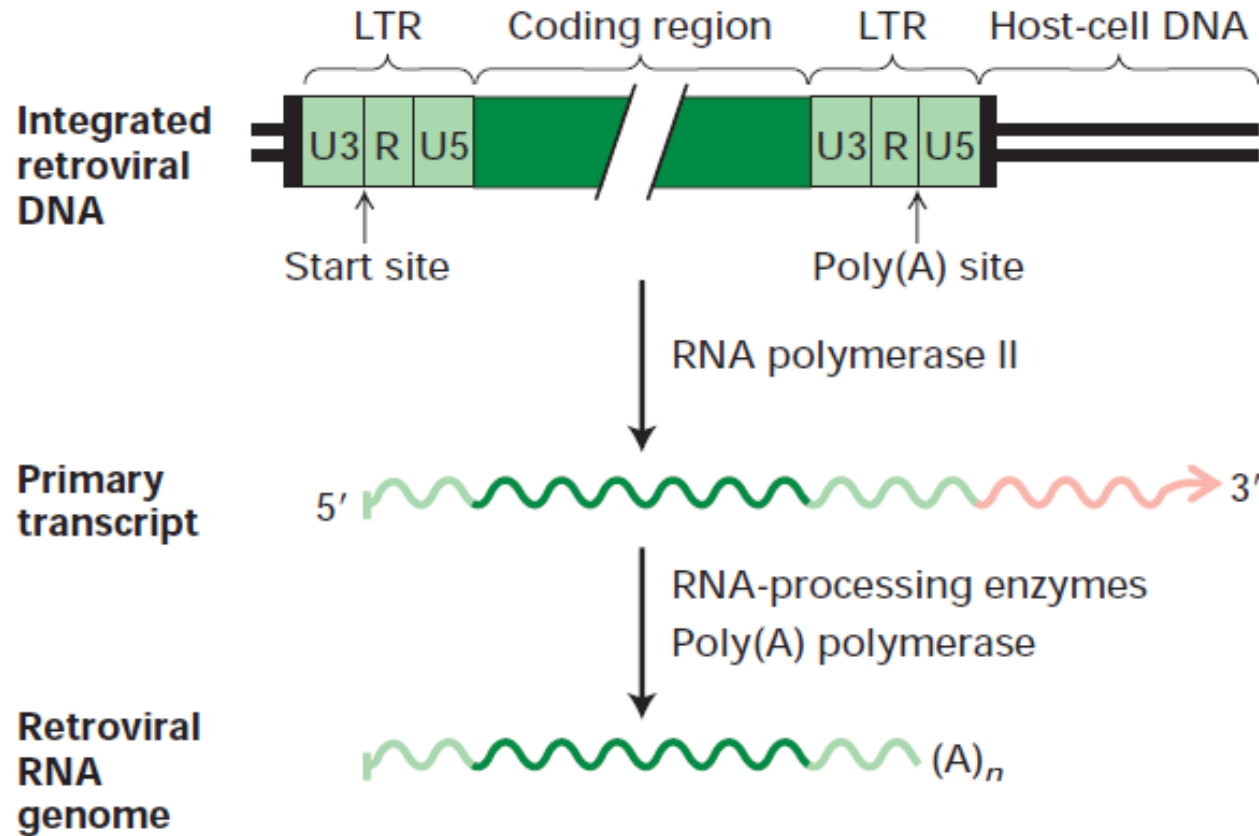
B Simple retrovirus (ALV)



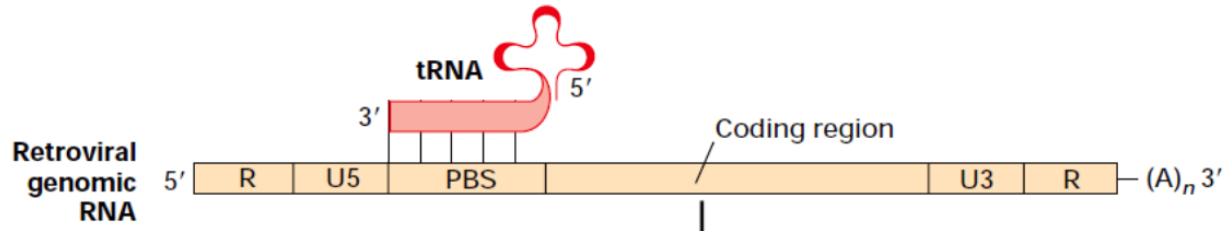
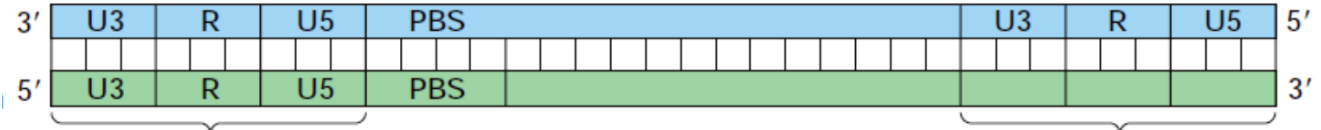
Complex retrovirus (HIV-1)



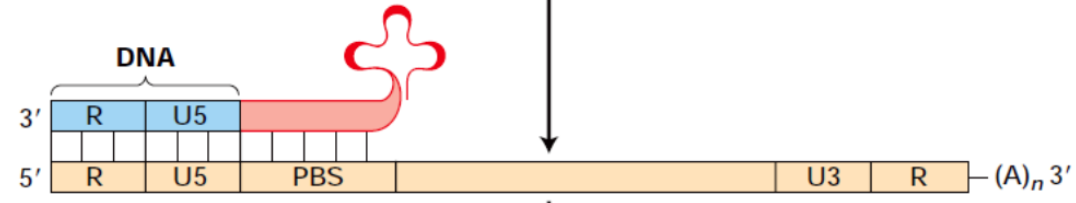
Retrovírus genomi RNS keletkezése



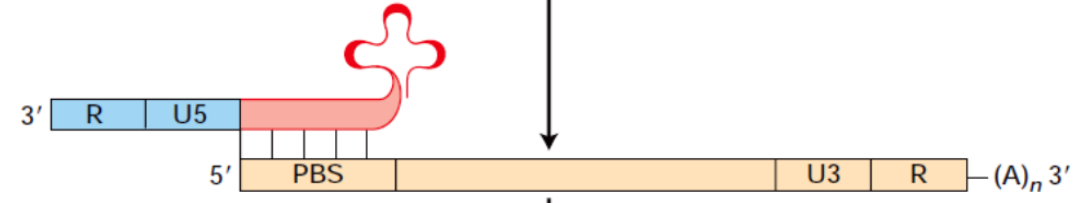
Start hely az LTR-en belül helyezkedik el – az RNS nem tartalmazza ezt a részt!



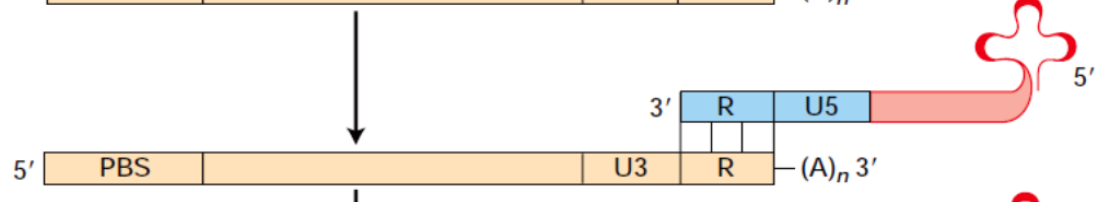
1 tRNA extended to form DNA copy of 5' end of genomic RNA



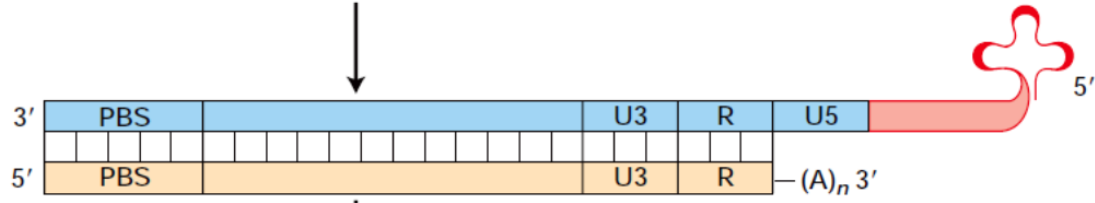
2 RNA of DNA-RNA hybrid digested



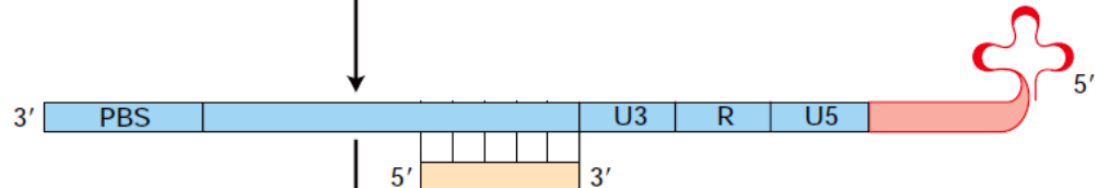
3 First jump: DNA hybridized with remaining RNA R sequence



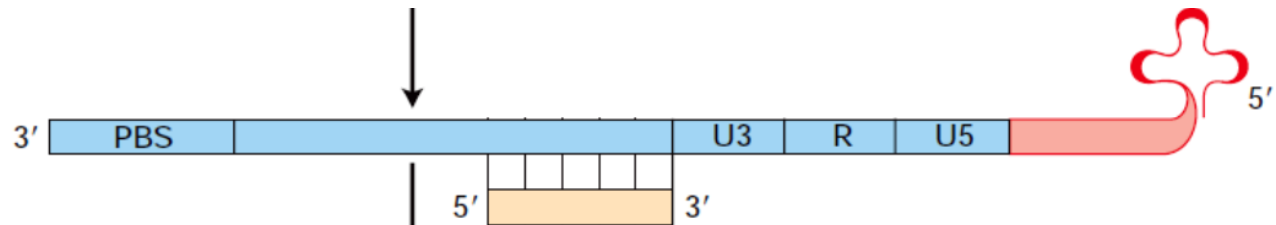
4 DNA strand extended from 3' end



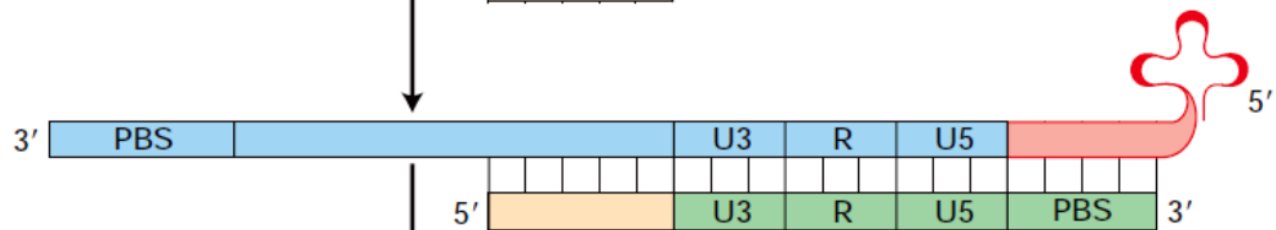
5 Most hybrid RNA digested



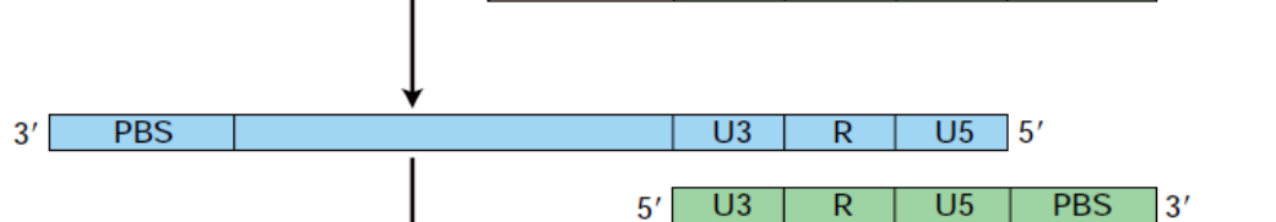
5 Most hybrid RNA digested



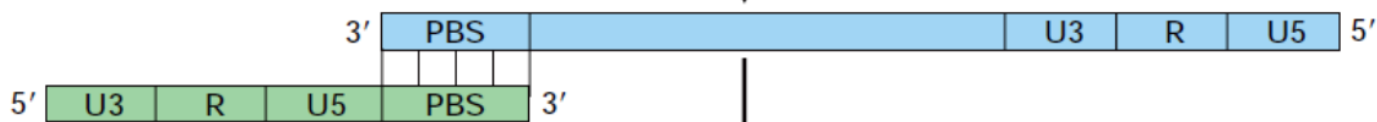
6 3' end of second DNA strand synthesized



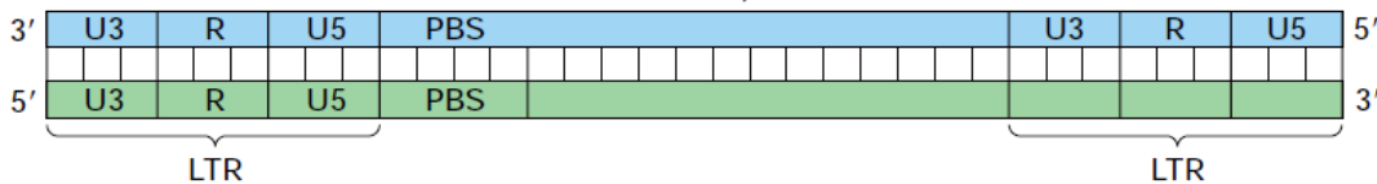
7 tRNA in DNA-RNA hybrid digested



8 Second jump



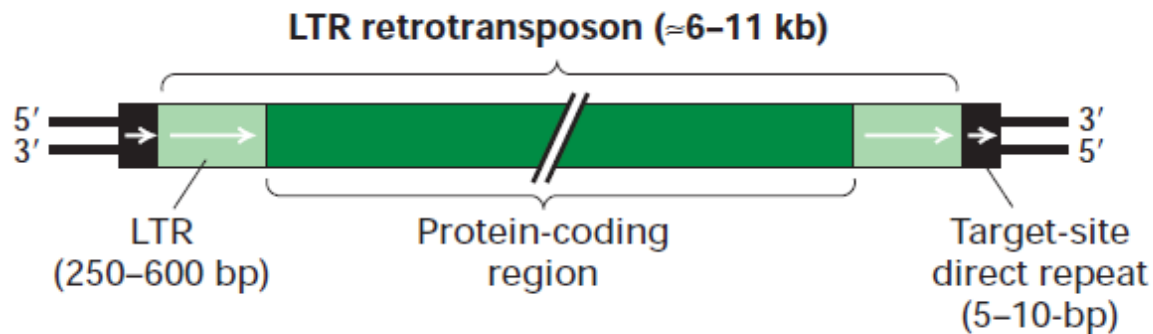
9 Both strands completed by synthesis from 3' ends



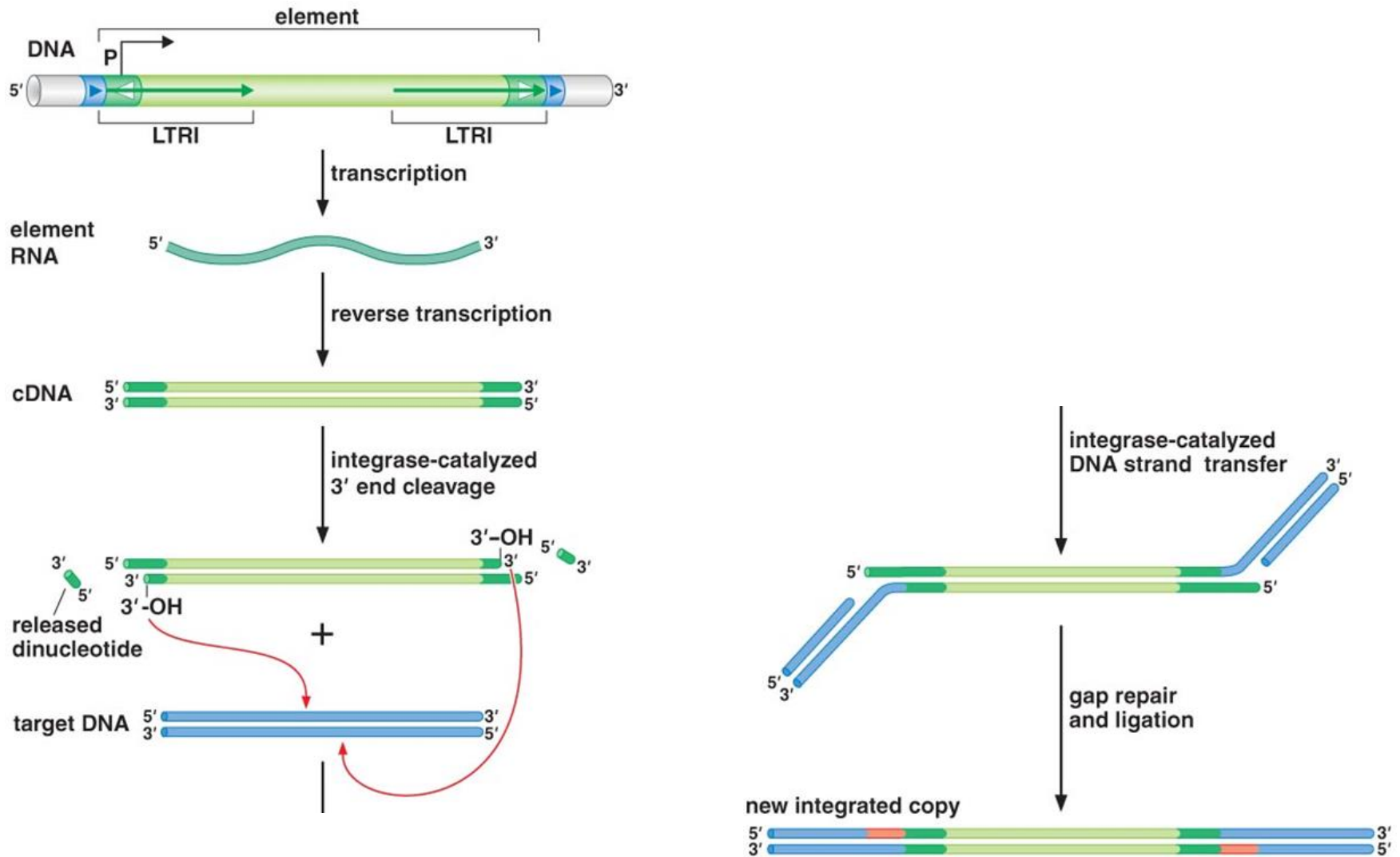
Retroviral DNA

LTR retrotransposon

Retrovírushoz hasonlóan: LTR, gének (kivéve envelope)

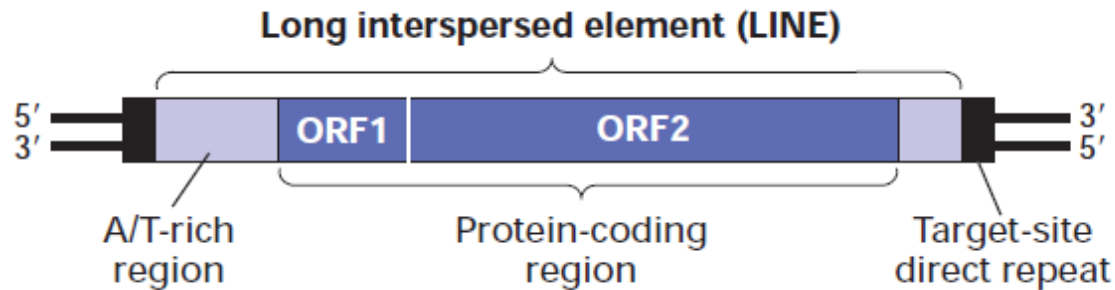


Transzpozíció: vírus szerű, LTR retrotranszpozonok

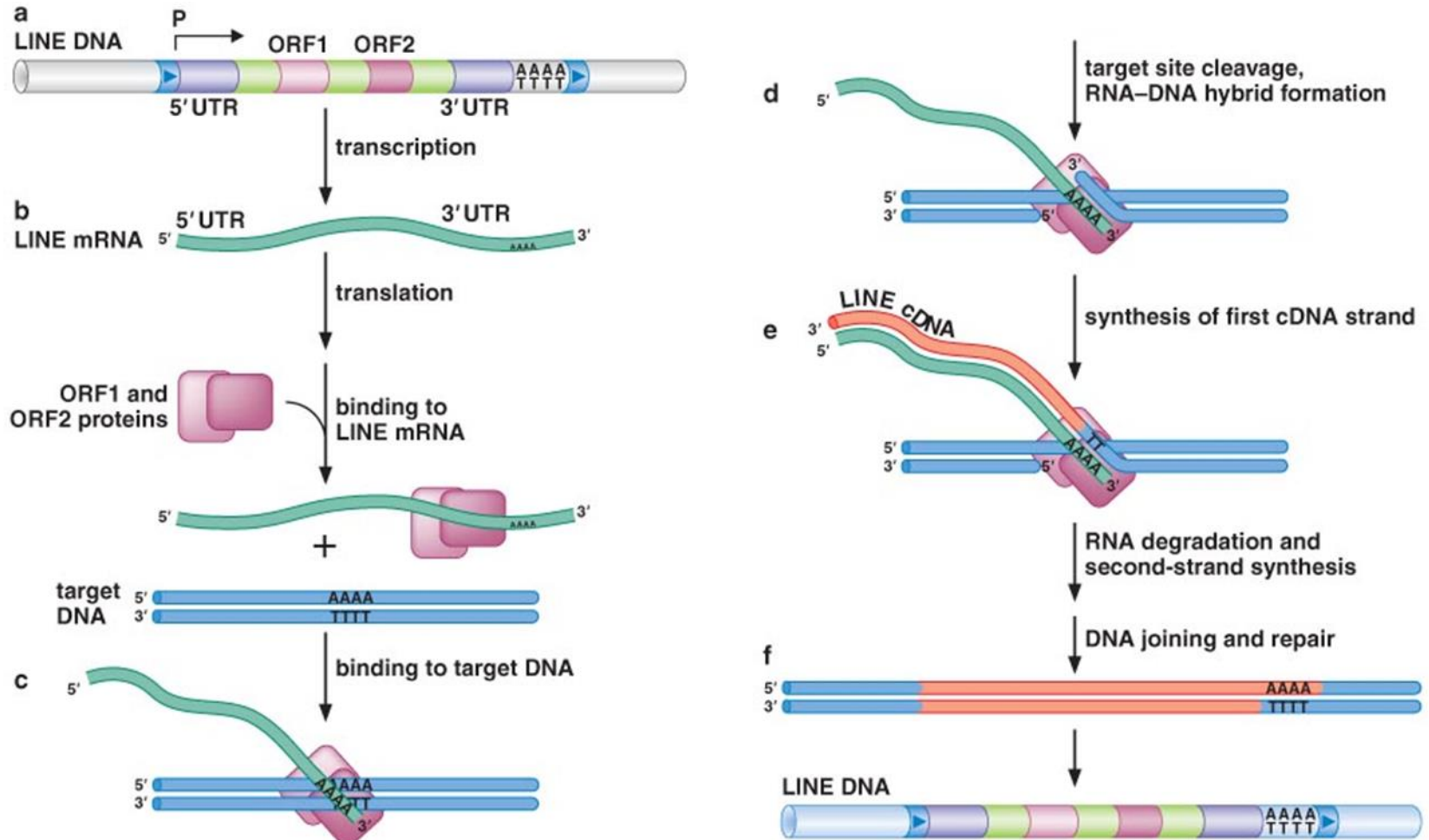


Nem LTR retrotranszpozon - retropozonok

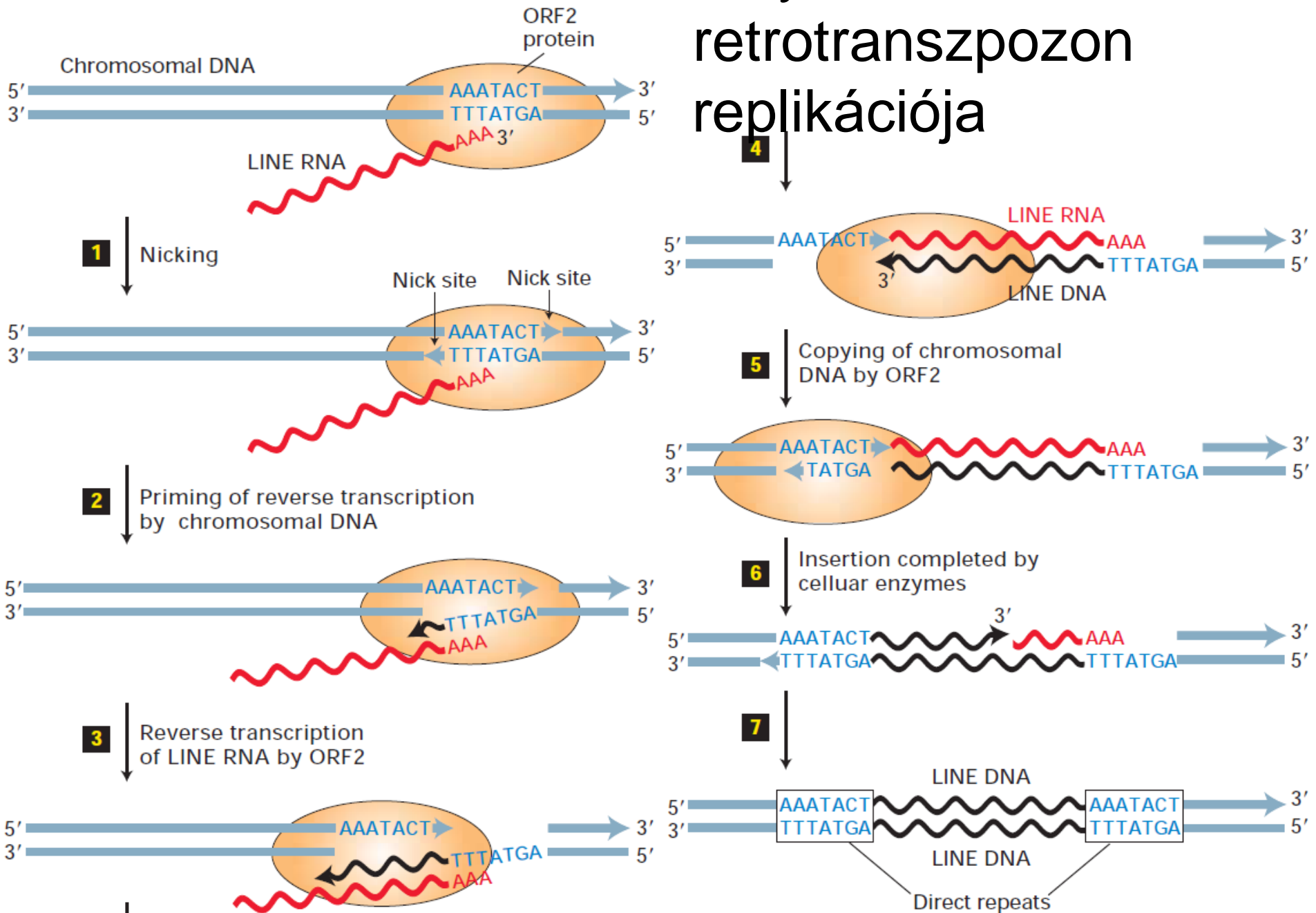
- LINE(long interspersed elements) ~6kb,
- SINE (short..) ~300bp



Poly-A retrotransposon



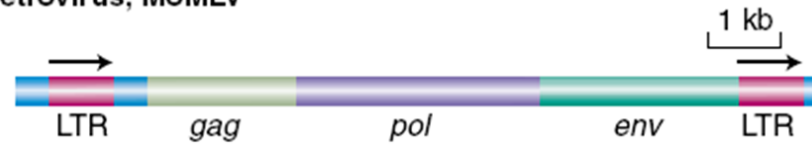
Poly-A retrotranszpozon replikációja



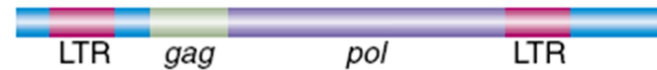
Példák

- Élesztő Ty
- Drosi copia
- Line
- Sine

(a) A retrovirus, MoMLV



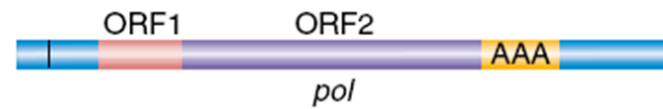
(b) Ty1 in yeast

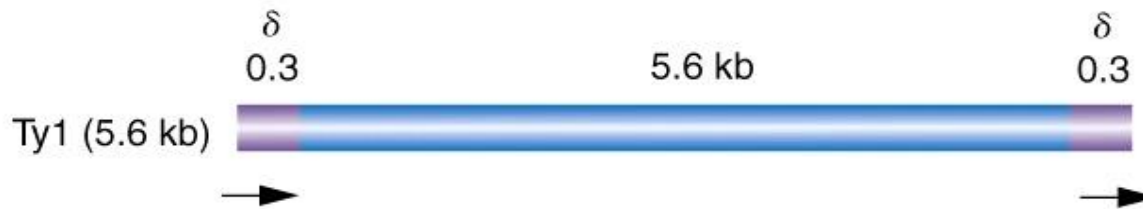


(c) Copia in *Drosophila*



(d) L1, a human LINE



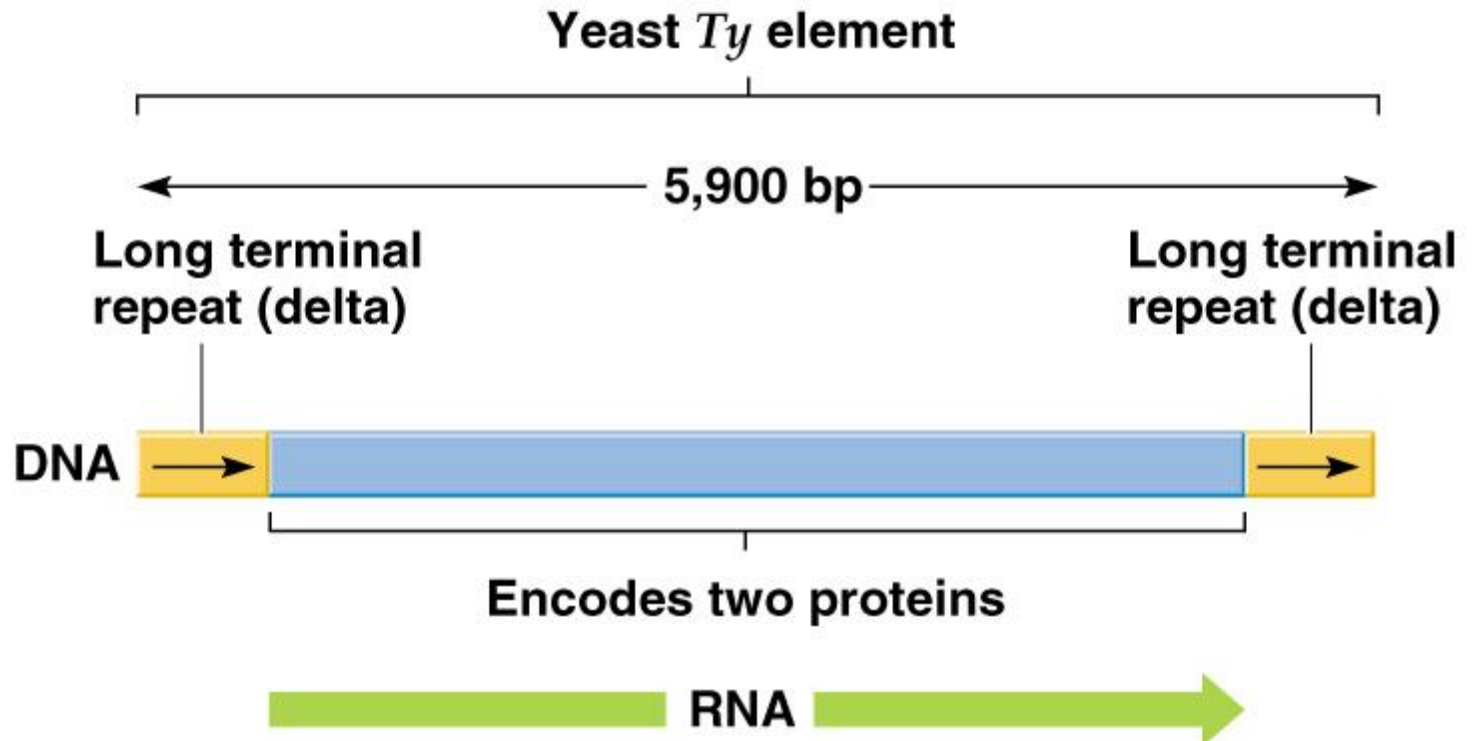


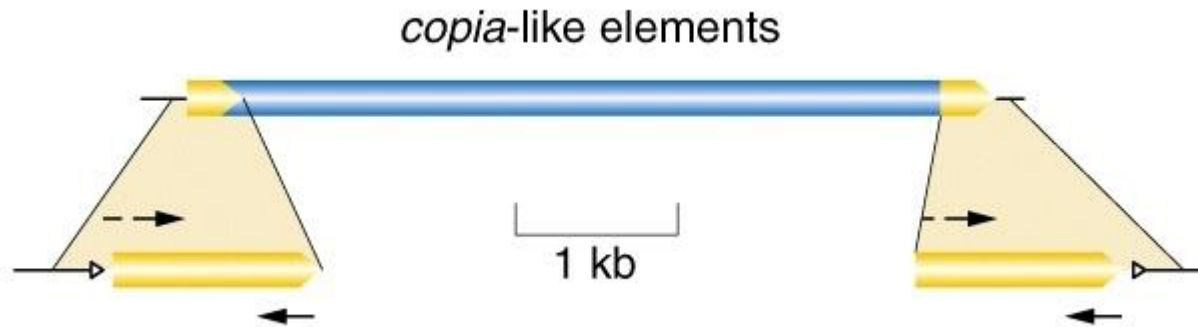
Az élesztő *Ty1*-nek nevezett elemei 5,6 kb hosszúak és körülbelül 35 kópiában fordulnak elő a genomban, a végén 38 bp hosszú un. δ (*delta*) szekvenciával, melyekből körülbelül 100 van a genomban. Az elemben a δ szekvenciák direkt ismétlődésűek, és 5 bp ismétlődést okoznak a beépülés helyén.

Ty elements in yeast:

- **Similar to bacterial transposons; terminal repeated sequences, integrate at non-homologous sites, with target site duplication.**
- **Ty elements share properties with retroviruses, retrotransposons:**
 - **Synthesize RNA copy and make DNA using reverse transcriptase.**
 - **cDNA integrates at a new chromosomal site.**

Fig. 7.26





A *Drosophila* copia-like elemeinek legalább 7 családja van, méretük 5-8,5 kb. Hosszú, direkt terminális ismétlődésükben egy rövid tökéletlen fordított ismétlődést hordoznak és beépüléskor jellemző számú bázispárnyi gazda DNS duplikációt hoznak létre. Mindegyik család 10-100-szoros ismétlődéssel fordul elő a genomban. A *Drosophila* white-apricot (w^a) szemszín mutánsa jellemző példája a kópia-szerű elem beépülés okozta mutációknak.

Human retrotransposons:

Alu1 SINEs (short-interspersed sequences)

- **~300 bp long, repeated 300,000-500,000X.**
- **Flanked by 7-20 bp direct repeats.**
- **Some are transcribed, thought to move by RNA intermediate.**
- **AluI SINEs detected in neurofibromatosis (OMIM162220) intron; results in loss of an exon and non-functional protein.**

L-1 LINEs (long-interspersed sequences)

- **6.5 kb element, repeated 50,000-100,000X (~5% of genome).**
- **Contain ORFs with homology to reverse transcriptases; lacks LTRs.**
- **Some cases of hemophilia (OMIM-306700) known to result newly transposed L1 insertions.**

Genes make up only a small portion of the eukaryotic chromosomal DNA

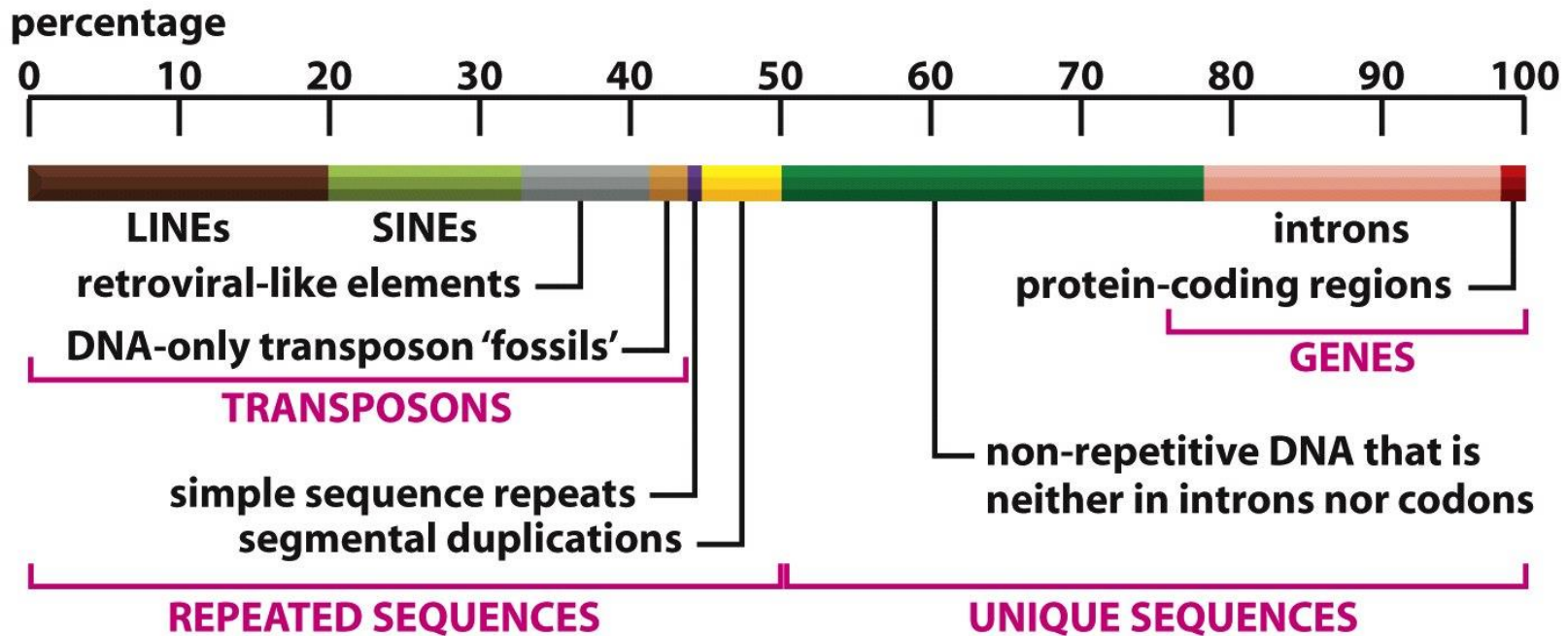
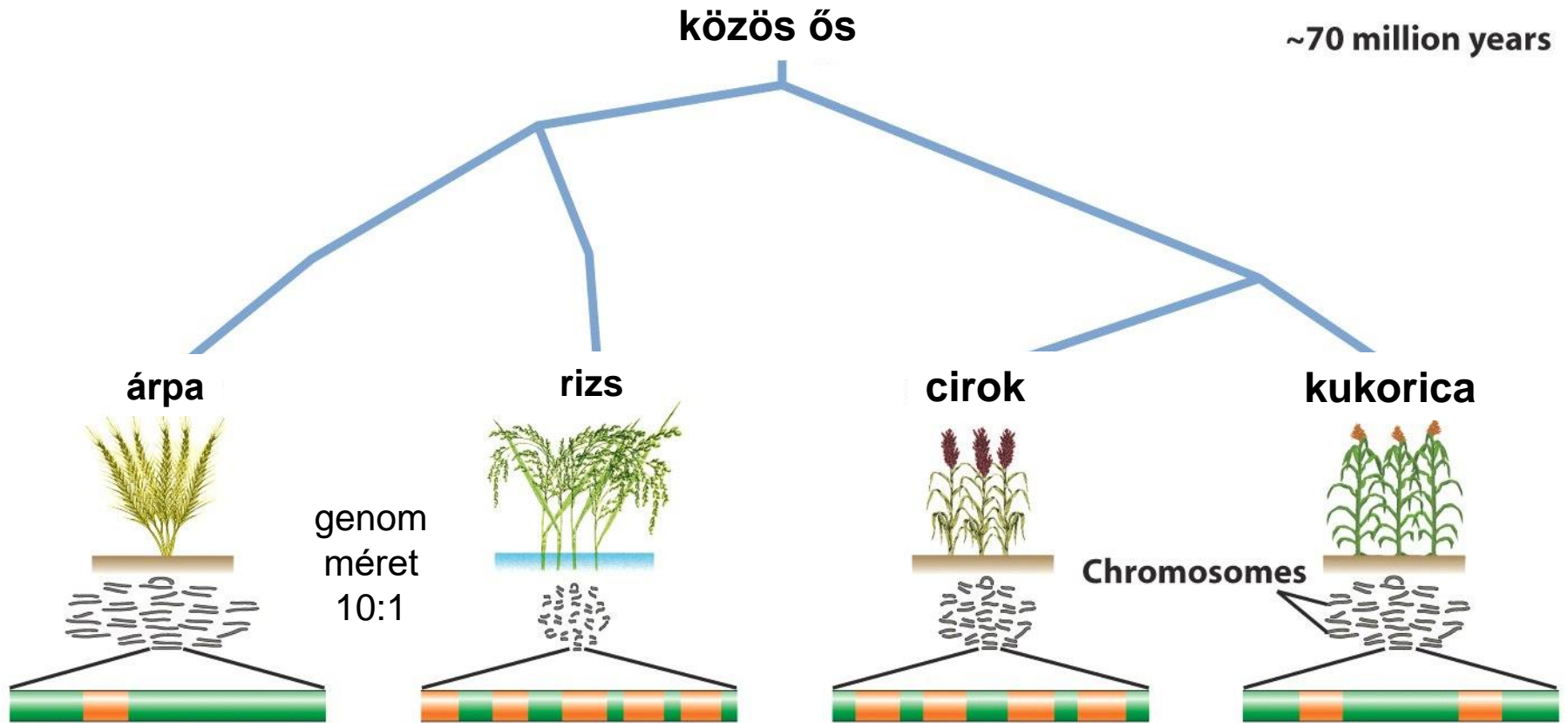


Figure 4-17 Molecular Biology of the Cell 5/e (© Garland Science 2008)

Representation of the nucleotide sequence content of the human genome.

LINES, SINES, retroviral-like elements, and DNA-only transposons are all mobile genetic elements that have multiplied in our genome by replicating themselves and inserting the new copies in different positions. Simple sequence repeats are short nucleotide sequences (less than 14 nucleotide pairs) that are repeated again and again for long stretches. Segmental duplications are large blocks of the genome (1000–200,000 nucleotide pairs) that are present at two or more locations in the genome. Over half of the unique sequence consists of genes and the remainder is probably regulatory DNA. Most of the DNA present in heterochromatin, a specialized type of chromatin that contains relatively few genes, has not yet been sequenced

Rokon fajok eltérő genom mérete a transzpozonoknak köszönhető.



narancs = kódoló gének, zöld = transzpozonok
egységnyi kromoszóma szakaszon.





Dinamikus genom: több mozgékony elem, mint hittük volna

Az eukarióta genomok tele vannak transzpozon szerű szekvenciákkal.

A genom szekvenálások feltárták, hogy ha közel rokon fajok genom mérete nagyban különbözik, a különbség szinte teljes mértékben transzpozon szekvenciák mennyiségéből adódik. Az árpa pl. 10-szer nagyobb genom mérettel rendelkezik mint a rokon rizs, a szalamandra 20-szor nagyobb mint az ember.

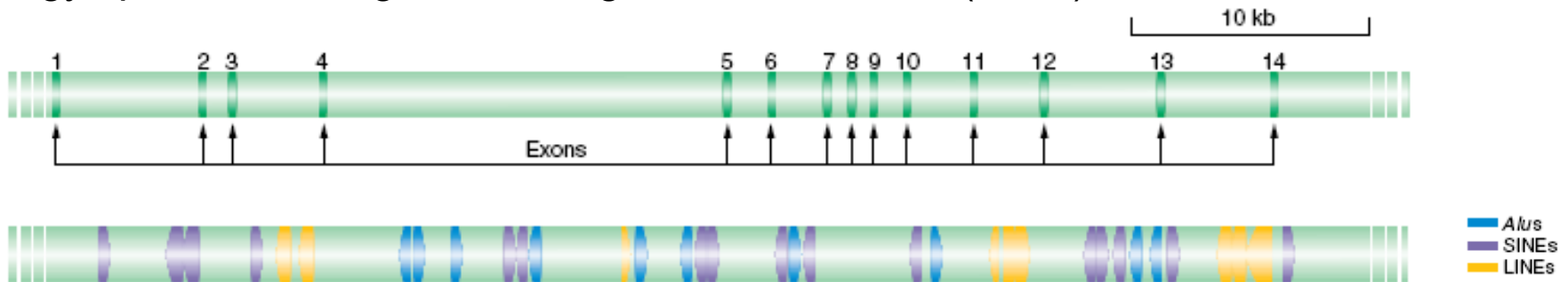
Az emberi genomnak csaknem felét retrotranszpozon szerű szekvenciák alkotják. Ezek két fő csoportja a LINE (Long Interspersed Nuclear Element) és a SINE (Short INE) elemek. A SINE a LINE deletált változatának tűnik.

Types of transposable elements in the human genome

Element	Transposition	Structure	Length	Copy number	Fraction of genome
LINEs	Autonomous		1–5 kb	20,000–40,000	21%
SINEs	Nonautonomous		100–300 bp	1,500,000	13%
DNA transposons	Autonomous		2–3 kb	300,000	3%
	Nonautonomous		80–3000 bp		

Az ember genomában leggyakoribb SINE az *Alu* elem. Ezek a genom 10 %-át teszik ki. *Alu*-nak azért nevezik, mert tartalmazza az *Alu* restrikciós enzim target helyét.

Egy tipikus humán gén a homogentizinsav-oxidáz (HGO) ismétlődő elemei:



Feltűnő, hogy minden ismétlődő elem intronban van. Az exonba ékelődő inszerciók negatív szeleció áldozatai lesznek. Ezért transzpozonokat sokkal ritkábban találunk működő génben, mint intronokban, egyéb transzpozonokban, vagy a centromer környéki heterokromatinban.

A gazdaszervezet rendelkezik inaktiváló mechanizmussal, ami megakadályozza a transzpozonok mozgását. Ez főként epigenetikus mechanizmusokból áll, ami a kromatin szerkezet csomagolása útján inaktiválja a transzpozonokat.

A spontán emberi mutációknak csak mintegy 0,2 %-át okozzák transzpozonok, de egerben ez az érték 10%.