

UNIVERSITÀ POLITECNICA DELLE MARCHE
Dipartimento Scienze della Vita e dell'Ambiente
Laurea Triennale in Scienze Biologiche



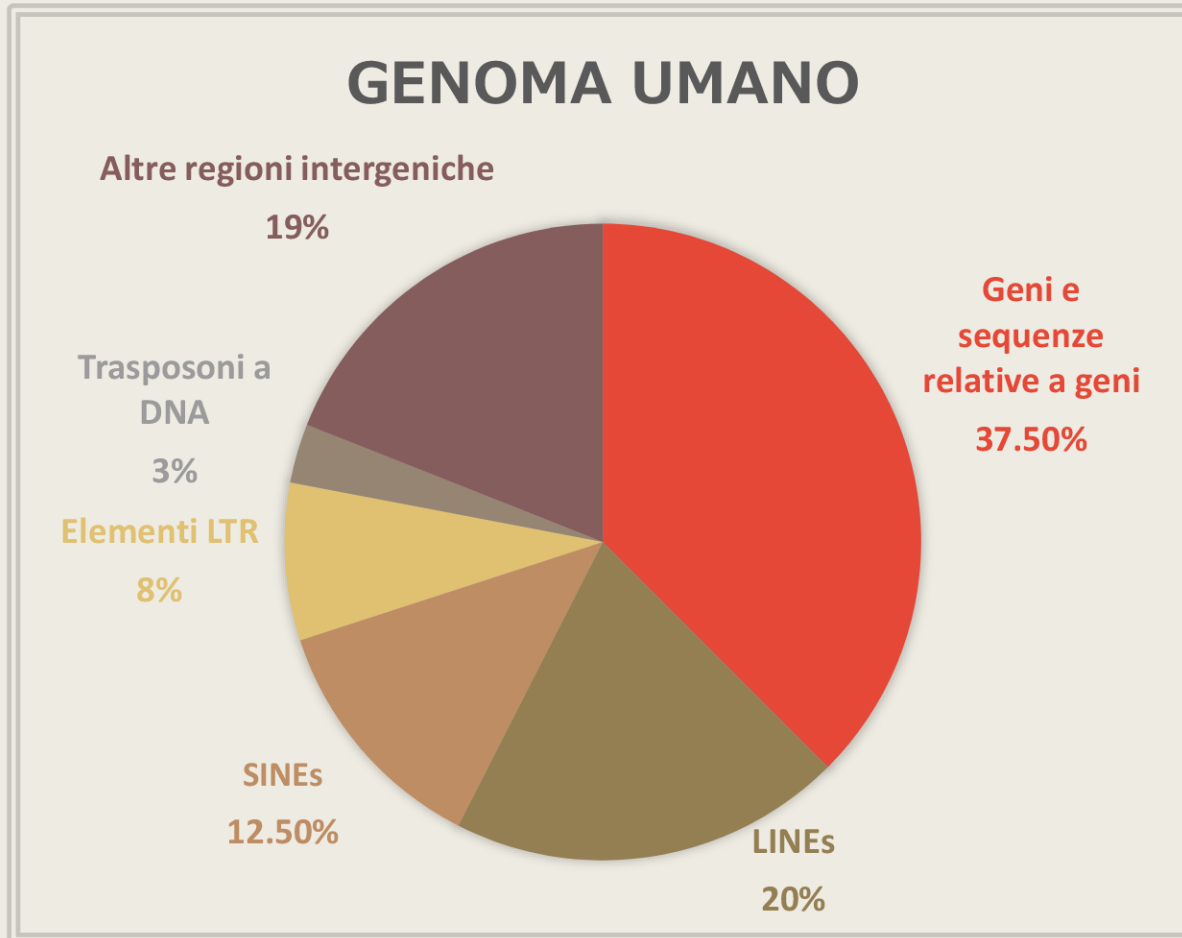
10 COSE SUGLI ELEMENTI TRASPONIBILI

10 THINGS ABOUT TRANSPOSABLE ELEMENTS

Relazione finale di Laura Moretti
Laurea Triennale in Scienze biologiche
A.A. 2019/2020

Referente
Marco Barucca

CARATTERISTICHE



Gli elementi trasponibili (ET) sono sequenze di DNA che hanno la capacità di cambiare la propria posizione nel genoma, quindi di trasporre autonomamente.

Distinguibili principalmente in 2 classi (Fig.2):

- Retrotrasposoni: sfruttano un intermedio a RNA, per poi integrarsi nel sito bersaglio, sfruttano un meccanismo «copia e incolla»
- Trasposoni a DNA: elementi di DNA escissi dalla loro posizione originale che si integrano in nuovi punti del genoma, utilizzano un meccanismo «taglia e incolla»

Gli ET rappresentano il 45% del genoma umano e solo la classe dei retrotrasposoni non LTR risulta attiva dal punto di vista della trasposizione, per questo è anche la più studiata. Il genoma umano in particolare è ricco di elementi LINE-1 (circa 17%) e Alu (circa 11%)

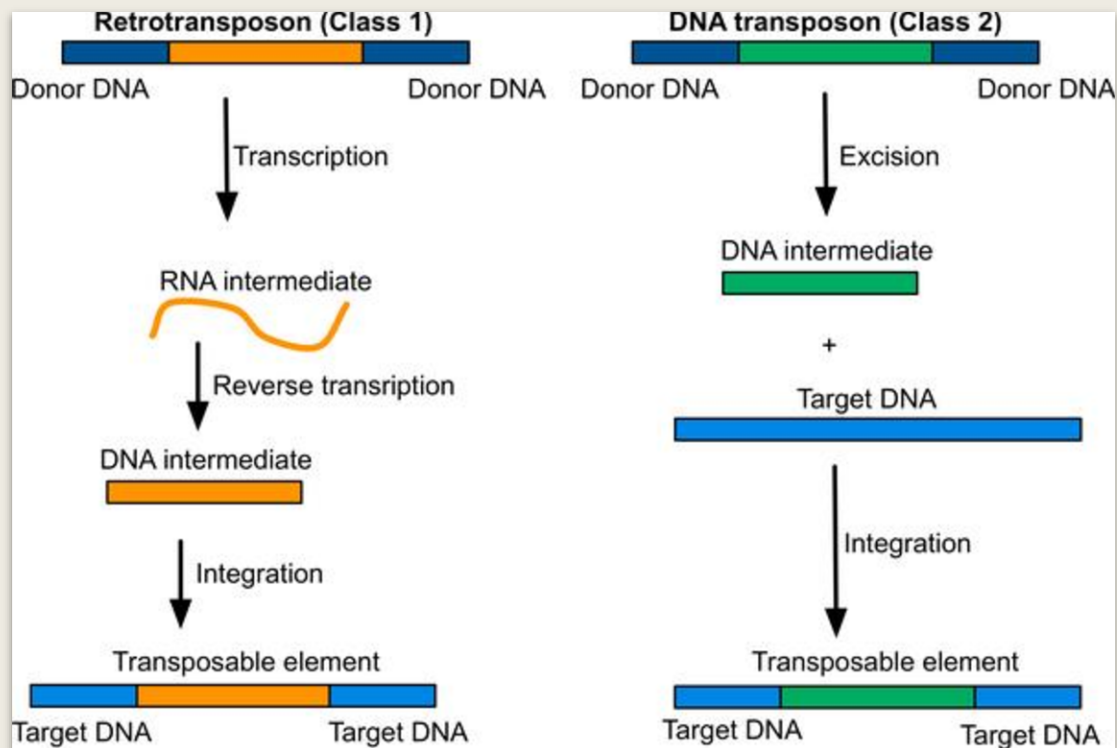


Figura 2. Classi di elementi trasponibili [5]

Le 2 classi di elementi trasponibili si dividono a loro volta in sottoclassi, ordini, superfamiglie, famiglie e sottofamiglie, a testimoniare la grande varietà di questi elementi.

Tra i Retrotrasposoni distinguiamo:

- Retrotrasposoni LTR** quali retrovirus endogeni (ERV, Fig. 3), coprono circa l'8% del genoma umano
- Retrotrasposoni non LTR** (o *poli a*) come LINEs (es. Line-1, Fig. 4) e SINEs (es. Alu), circa il 33% del genoma umano

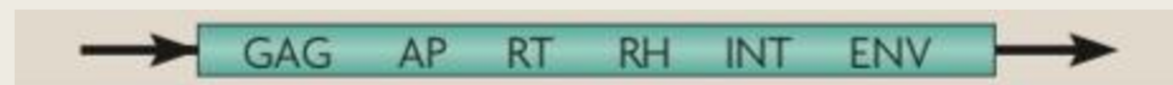


Fig. 3 Virus endogeno (ERV) in sequenza, da sinistra, troviamo: LTR (long terminal repeat), GAG capsid protein, AP aspartic proteinase, RT reverse transcriptase, RH RNase H, INT integrase, ENV envelope protein, LTR [6]



Fig. 4 elemento Line-1, in sequenza da sinistra troviamo: Non-coding region, ORF1 Open reading frame trascrive per ORF1p, non coding region e ORF2 codificante per la proteina ORF2p: APE apurinic endonuclease, RT reverse transcriptase, non-coding region. Lunghezza circa 6 kb [6]

Gli ET non si spostano nel genoma in maniera casuale, la loro posizione è il risultato, in primo luogo, della scelta del sito di inserzione, non necessariamente specifico e in secondo luogo è la selezione, da parte dell'ospite, a determinare l'eliminazione di eventuali inserzioni con effetti negativi sulla fitness.

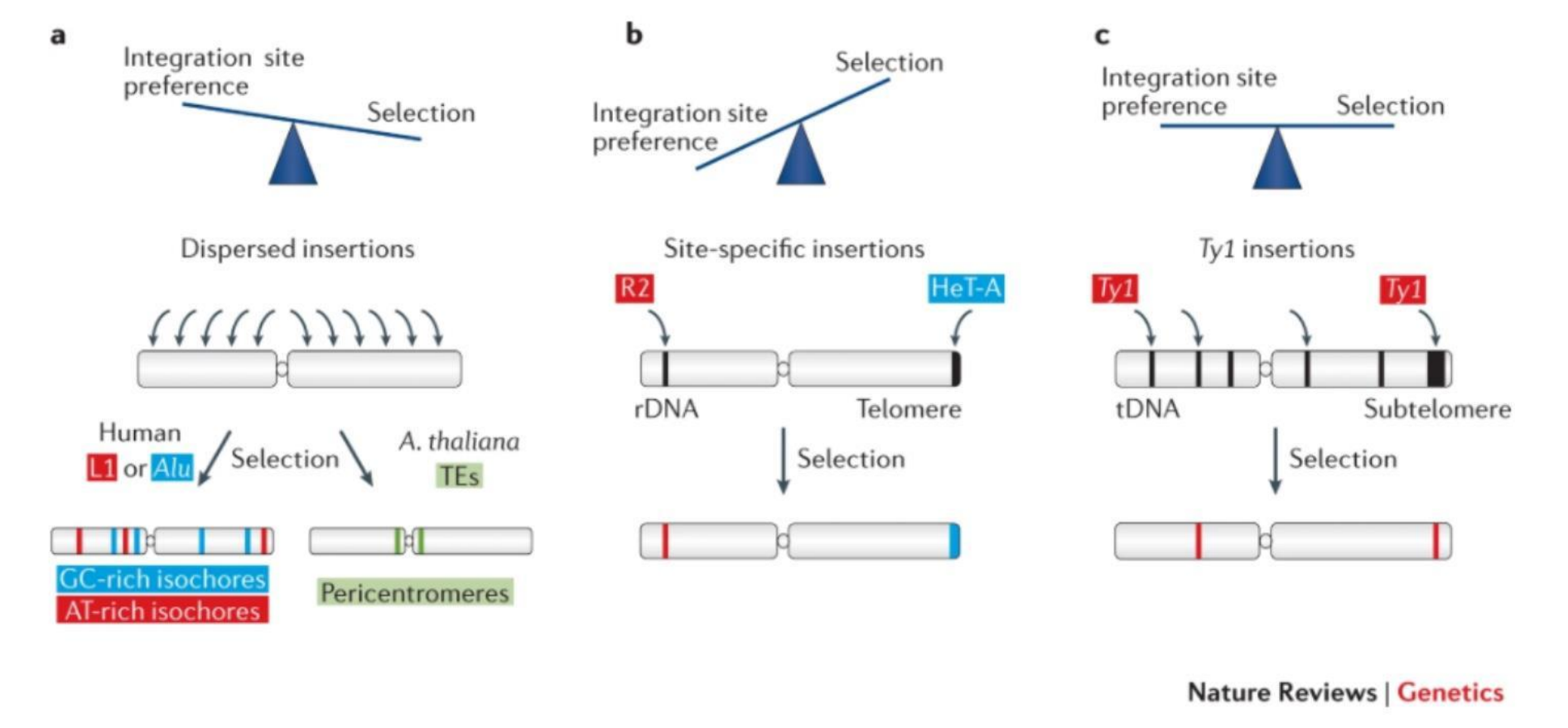


Fig.5 Possibili schemi d'inserzione, risultato dell'integrazione sito-specifica e della selezione. **a.** Le inserzioni disperse lungo il cromosoma sono soggette a una forte selezione. Gli elementi endogeni L1 sono generalmente presenti in regioni ricche di AT mentre elementi Alu si trovano in regioni ricche di GC. **b.** Alcuni ET sono sito-specifici come nel caso di R2 nell' rDNA (DNA ribosomiale) o HeT-A a livello dei telomeri. **c.** alcuni ET hanno precisi punti di inserzione ma dispersi, come nel caso di Ty1 a livello di tRNA-encoding DNA (tDNA) e dei subtelomeri [9].

In uno studio mirato a sequenziare il genoma del Mais B73 è stato riscontrato come questo sia formato per l'85% da ET, di cui la maggior parte sono retrotrasposoni LTR (>75% dell'intero genoma, 406 famiglie)

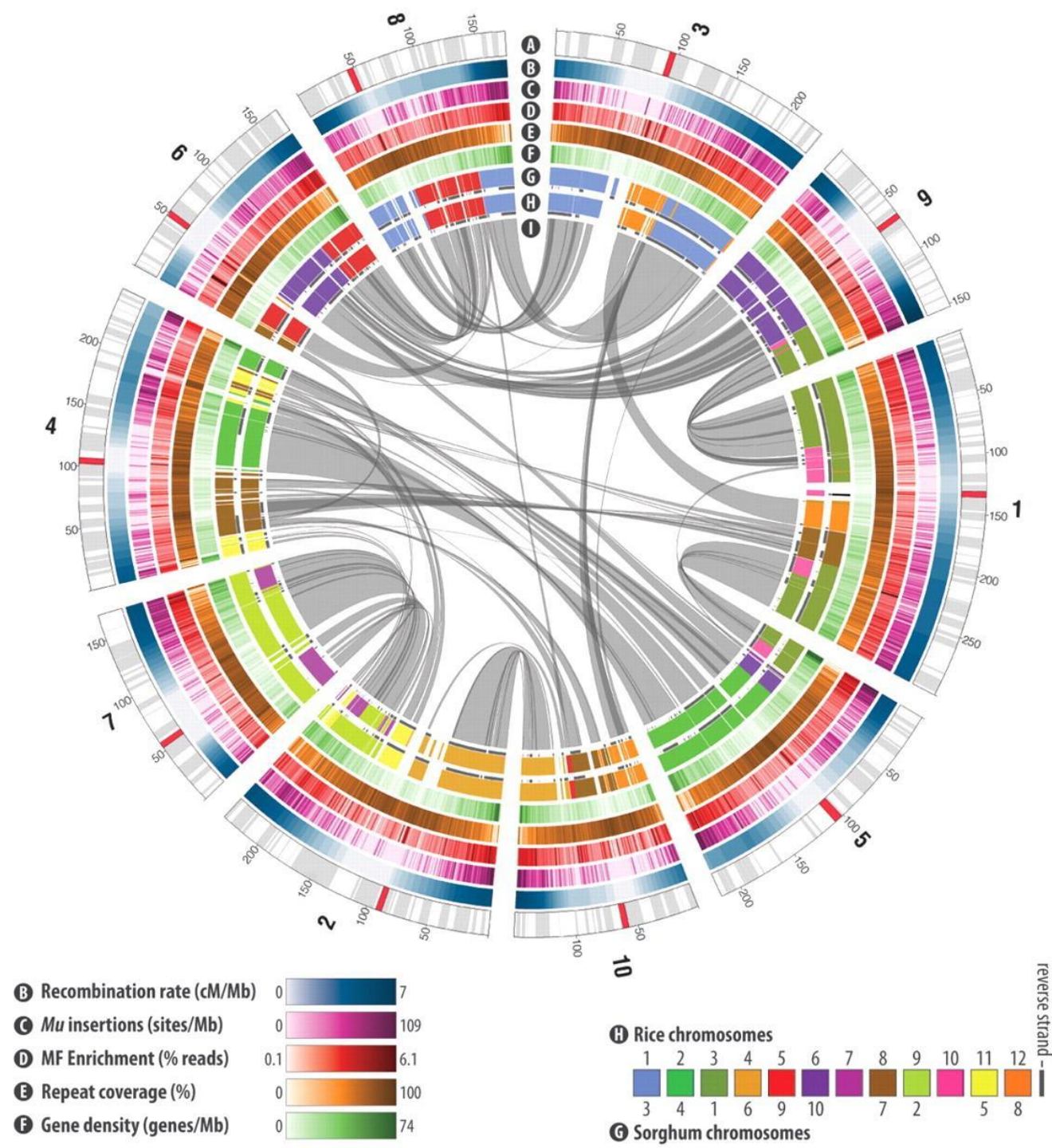


Figura 6. Genoma di riferimento del mais B73. I cerchi concentrici mostrano diversi aspetti del genoma. **A)** Cromosomi, la banda rossa rappresenta la presunta posizione del centromero. **B)** Mappa genetica. **C)** Siti non ridondanti per l'inserzione di *Mu*, essa avviene generalmente in siti posizionati in regioni ad alto tasso di ricombinazione meiotica **D)** Lettura dopo filtrazione metilica (MF) **E)** Copertura degli elementi ripetuti (TEs) ottenuta attraverso RepeatMasker. **F)** Densità dei geni **G)** Sintenia del sorgo **H)** Sintenia del riso **I)** Mappa di omologia. Siti di omologia di blocchi di geni duplicati nel mais [7]

REGOLAZIONE

L'espressione degli ET deve essere tale da poter permettere l'amplificazione ma anche tale da non apportare uno svantaggio alla fitness dell'ospite. A questo proposito i meccanismi di controllo del numero di copie sono sia autoregolati dagli stessi ET che dall'ospite.

Il bilancio espressione/repressione degli ET varia molto in base al tipo di **tessuto** e allo **stadio di vita** di un organismo, ed è differente tra le cellule della linea **germinale** e quella della linea **somatica**, dove, in entrambi, può avere azione mutagena.

La regolazione epigenetica

Come emerso da alcuni studi^[2], gli elementi Alu e L1 si trovano generalmente in uno stato ipermetilato e silenziati, ma variazioni nello stato di metilazione del genoma possono indurre l'attivazione. La variazione può essere dovuta sia a agenti esterni come fattori ambientali (Fig. 6), sia a processi interni come la riprogrammazione epigenetica (Fig. 7). Un esempio è nella produzione, per meiosi, dei gameti: l'imprinting genomico parentale viene azzerato, per essere ristabilito nelle cellule germinali.

Nella metilazione c'è il trasferimento di un gruppo metile al C5 della citosina dei dinucleotidi CpG

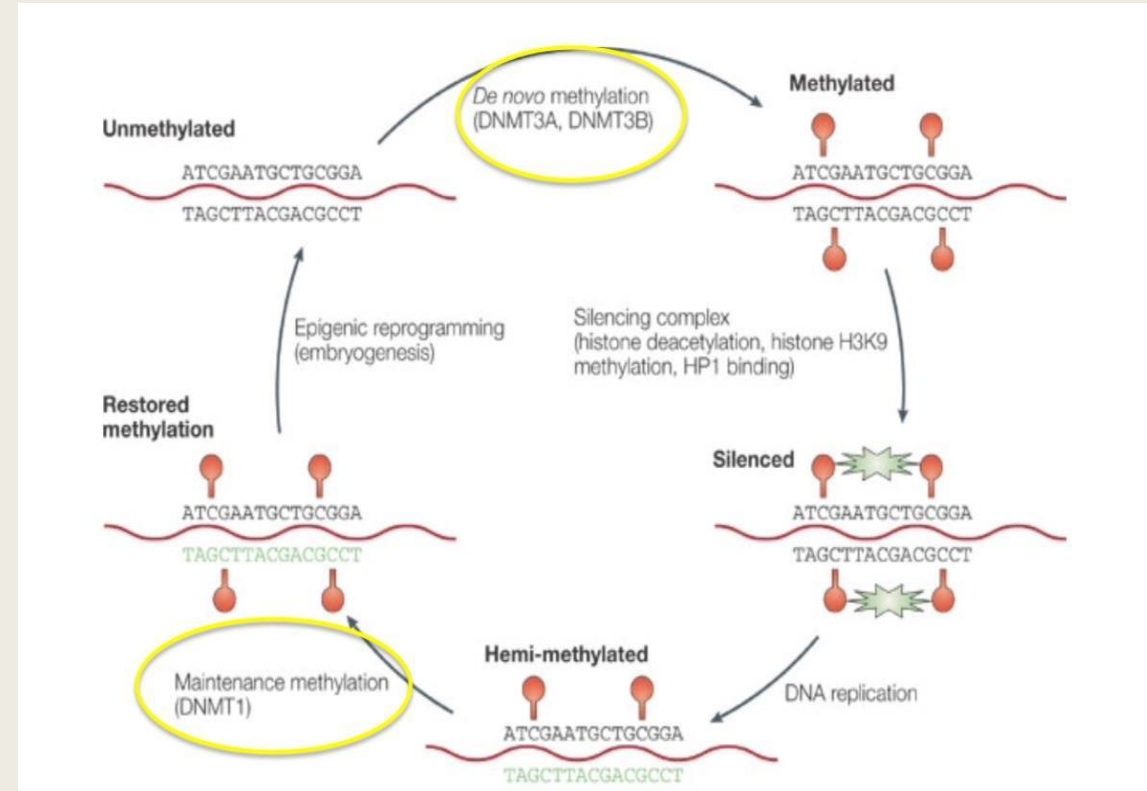


Figura 7 [8]

Le caratteristiche epigenetiche riguardano anche modificazioni chimiche a carico delle proteine istoniche e il rimodellamento della cromatina.

Modificazioni chimiche (figura 8, acetilazione, fosforilazione e metilazione), a carico delle code N-terminali istoniche, hanno un ruolo importante nella regolazione trascrizionale e quindi anche nella regolazione dell'attività degli elementi trasponibili.

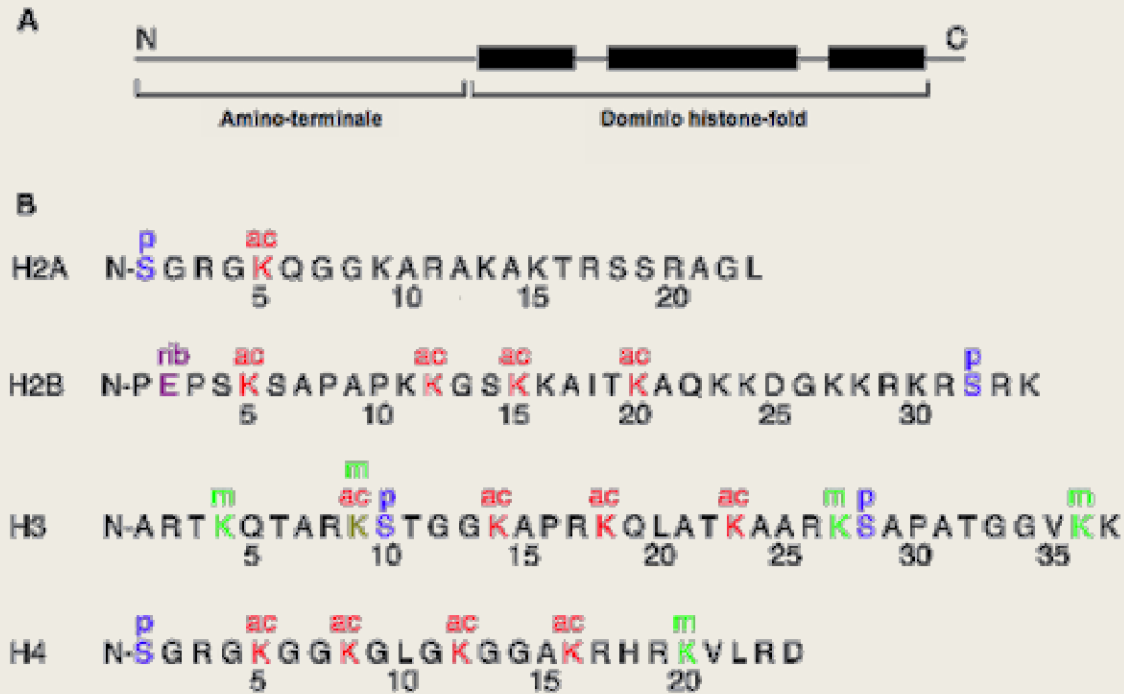


Figura 8. Tutti i possibili pattern di modifiche a carico degli istoni.
ac=acetilazione, m=metilazione, p=fosforilazione, rib=ADP ribosilazione [4]

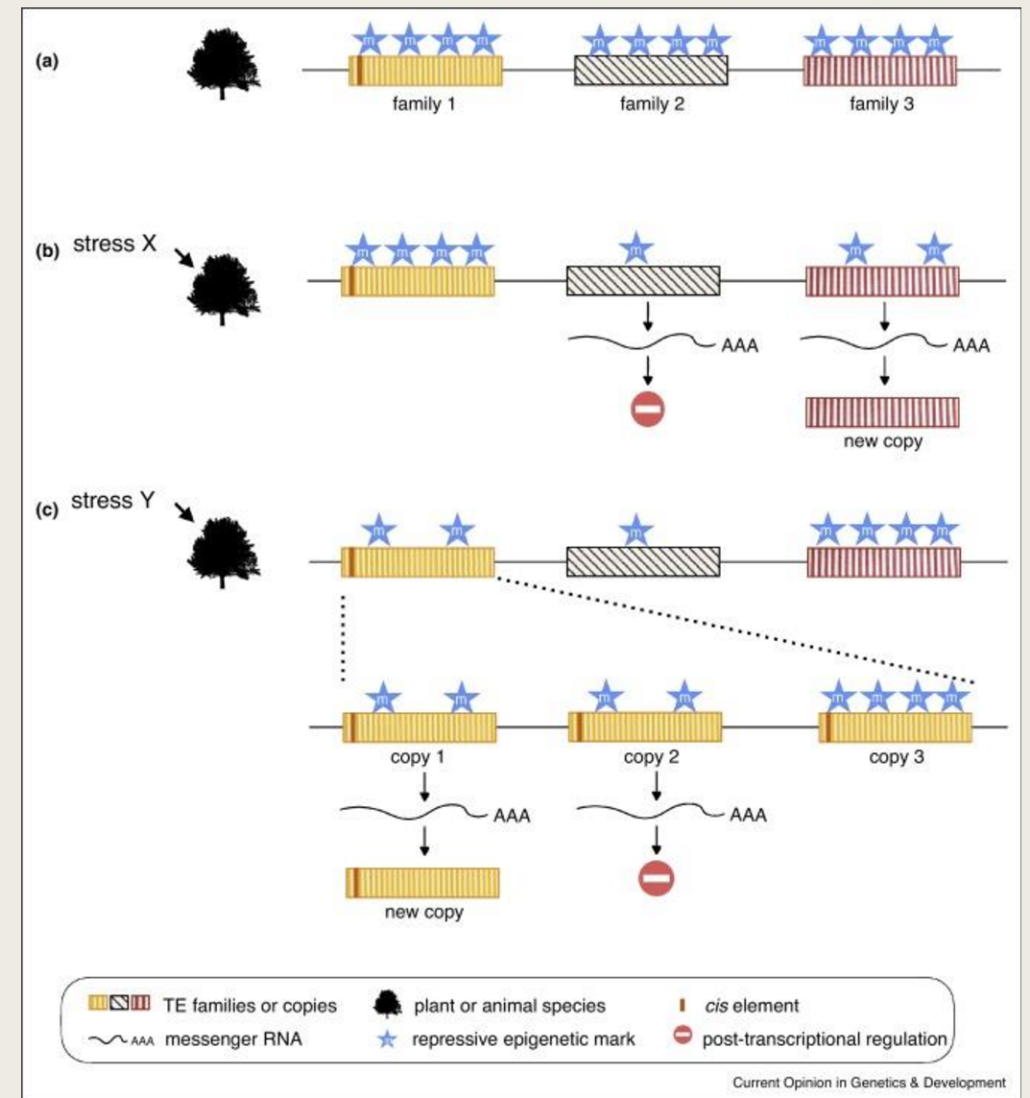


Figura 9 Come gli ET rispondono allo stress dipende dalla famiglia e dalla copia. a) 3 famiglie di ET repressi in normali condizioni dalla metilazione del DNA b) Esposizione allo stress X provoca la de-repressione con la generazione di nuove copie (famiglia 3) o di copie ancora sotto il controllo post-trascrizionale (famiglia 2) c) stress che determina l'attivazione di una particolare famiglia (famiglia 1) e, all'interno di questa, solo di alcune copie. [3]



TRASPOSIZIONE

EFFETTI NEGATIVI

EFFETTI POSITIVI

Le proteine 'sincitine' sono codificate da geni env inglobati indipendentemente

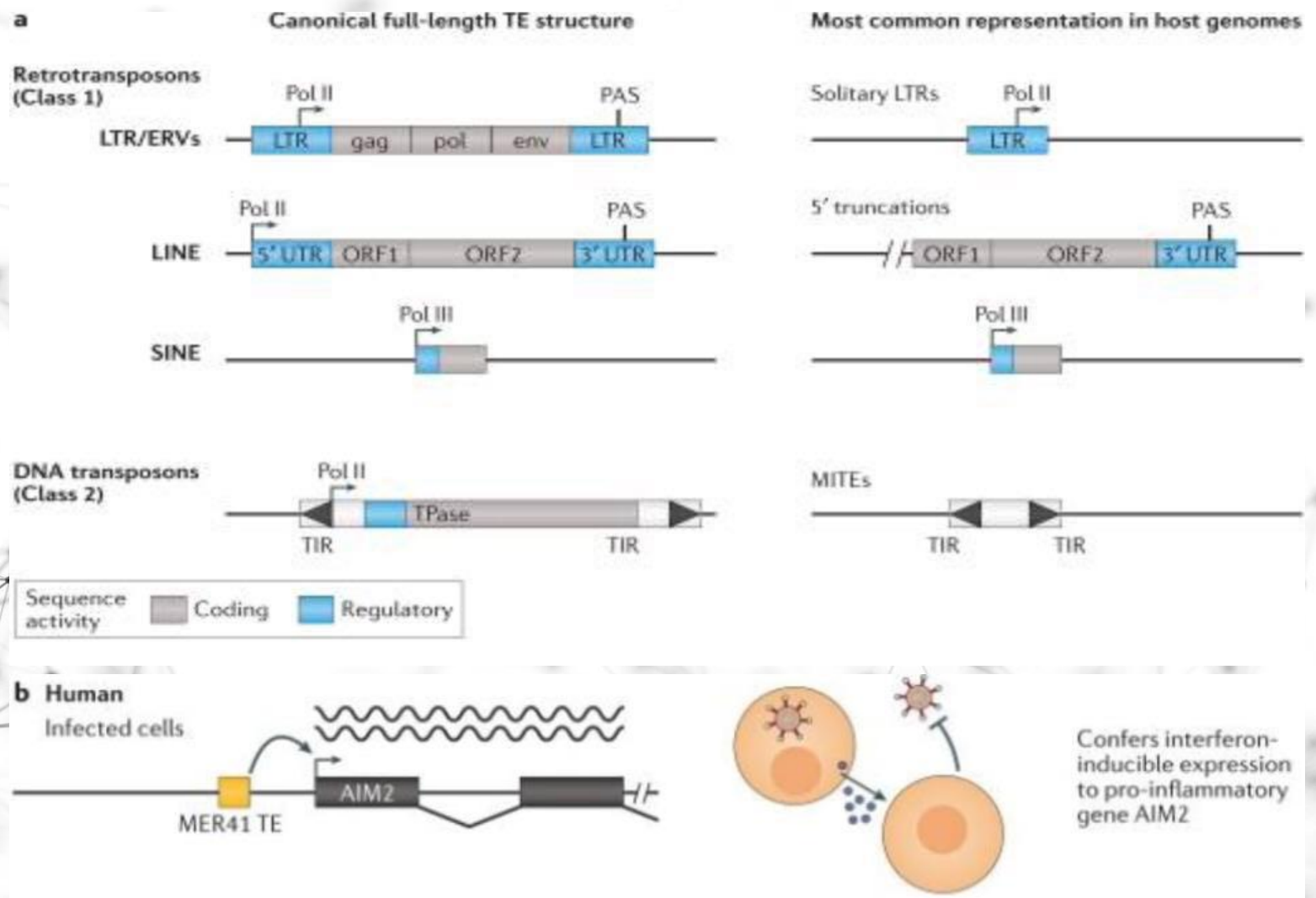
Gli ET sono i maggiori costituenti degli RNA non codificanti, ruoli importanti nel mantenimento della pluripotenza delle cellule staminali

Comparsa nuovi geni codificanti e non, anche con funzioni importanti

Aggiunta di esoni o riarrangiamento di geni esistenti

Alu come alternativa esonica

Macchinario enzimatico di L1 coinvolto nella genesi di più di 10.000 copie del retrogene nel genoma di mammifero



Gli ET possono disperdere una grande quantità di enhancers e promotori, siti di legame per i fattori di trascrizione, sequenze isolatrici, elementi di repressione (Figura 10).

Essi hanno tutte le caratteristiche di elementi cis-regolatori: possono legare diversi fattori di trascrizione, rispondono a segnali sia cis che trans, sono capaci di coordinare l'espressione genica.

In questo contesto gli ET sono agenti adatti per modificare i processi biologici creando nuovi circuiti di regolazione cis e per la revisione di reti preesistenti.

Figura 10 a) La colonna di sinistra mostra modelli di vari elementi trasponibili in tutta la loro lunghezza, mentre la colonna di destra mostra come questi si presentano solitamente nel genoma. **b)** L'elemento trasponibile MER41 costituisce un enhancer interferone-inducibile a monte del gene umano AIM2, il quale è coinvolto nella regolazione della risposta infiammatoria in seguito a un'infezione. [10]

CONCLUSIONI

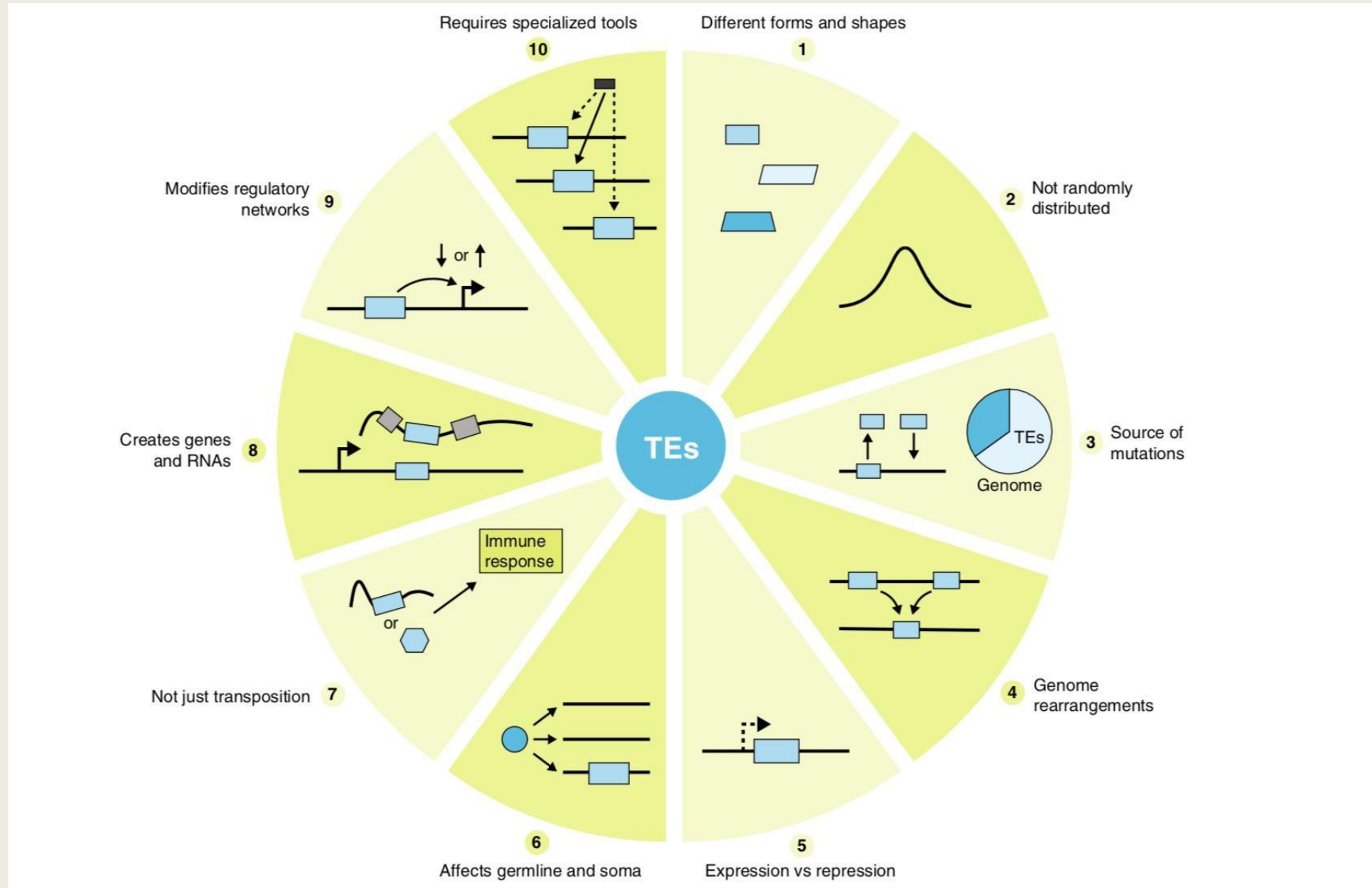


Figura 11 [1]

CONCLUSIONI

Come potenti inserti mutageni, gli ET possono avere sia effetti negativi che positivi sulla fitness dell'ospite, i quali influenzano e stabiliscono la loro fissazione nel genoma di un organismo, insieme alle forze guida della deriva genetica e della selezione naturale.

Nonostante gli ET vengono definiti in gran parte come «junk DNA», i numerosi studi che li coinvolgono hanno permesso di poter comprendere il loro enorme potenziale all'interno dell'organismo: coordinatori di molte funzioni biochimiche, gli ET costituiscono un'importante fonte di ricerca, per cui non è possibile utilizzare approcci standard e che quindi richiedono, per la loro elevata diversità, una continua innovazione delle tecniche impiegate per il loro studio.

BIBLIOGRAFIA

[1] **Ten things you should know about transposable elements, Guillaume Bourque , Kathleen H. Burns, Mary Gehring, Vera Gorbunova, Andrei Seluanov, et al., Genome Biology 2018, 19:199**

[2] Miyoshi N, Stel JM, Shioda K, Qu N, Odahima J, Mitsunaga S, et al. Erasure of DNA methylation, genomic imprints, and epimutations in a primordial germ-cell model derived from mouse pluripotent stem cells. Proc Natl Acad Sci U S A. 2016;113:9545–50.

[3] Lanciano S, Mirouze M. Transposable elements: all mobile, all different, some stress responsive, some adaptive? Curr Opin Genet Dev. 2018;49:106–14.

[4] <http://atlasgeneticsoncology.org/Educ/CromatinalD30017IS.html>

[5] J. Arvid Ågren, Andrew G. Clark Selfish genetic elements, Plos genetics November 15, 2018

[6] Wicker T, Sabot F, Hua-Van A, Bennetzen JL, Capy P, Chalhoub B, et al. A unified classification system for eukaryotic transposable elements. Nat Rev Genet. 2007

[7] Schnable PS, Ware D, Fulton RS, Stein JC, Wei F, Pasternak S, et al. The B73 maize genome: complexity, diversity, and dynamics. Science. 2009

[8] https://elearning.unite.it/pluginfile.php/167252/mod_resource/content/1/Epigenetica%20e%20Sviluppo%20embrionale_2_2_2_2_2_2_2_2.pdf?fbclid=IwAR1rvhIRHCiMzMThVxdIq9amQWkR62kkgZdS3syGYNH6nv5O7DISP8feval

[9] Sultana T, Zamborlini A, Cristofari G, Lesage P. Integration site selection by retroviruses and transposable elements in eukaryotes. Nat Rev Genet. 2017; 18:292–308.

[10] Chuong EB, Elde NC, Feschotte C. Regulatory activities of transposable elements: from conflicts to benefits. Nat Rev Genet. 2017;18:71 –86.

Foto in copertina:

https://www.google.com/search?q=dna&source=lnms&tbm=isch&sa=X&ved=2ahUKewjvnbW5nJHsAhXBGewKHU5fDYEQ_AUoAXoECCYQAw&biw=1366&bih=576#imgrc=J5pH-5TIs1hG8M

**GRAZIE PER
L'ATTENZIONE!**



RIASSUNTO

Gli elementi trasponibili costituiscono un'importante componente di tutti i genomi, considerati, fino a pochi anni fa come 'junk DNA', ad oggi sono state rivalutate le importanti funzioni che questi elementi svolgono nell'evoluzione e stabilità genomica, ma anche il loro coinvolgimento nei processi cellulari. Possono essere distinti in due classi principali: elementi a DNA e retrotrasposoni, che sfruttano un intermedio a RNA. Questi ultimi includono i retrotrasposoni non-LTR, tra cui LINE-1 e Alu, i due elementi più abbondanti nel genoma umano e gli unici ancora attivi e in grado di trasporsi. La trasposizione è autonoma, la stessa sequenza dell'elemento codifica per proteine come trascrittasi inversa, endonucleasi e integrasi, fondamentali per l'escissione e la successiva integrazione nel sito bersaglio. Il sito di inserzione non è necessariamente specifico, ma è l'effetto della selezione a determinare la stabilità dell'elemento in un determinato punto del genoma. Gli elementi trasponibili sono alla base di polimorfismi del DNA e mutageni, con la trasposizione, ad esempio, possono inserirsi in sequenze esoniche inattivando il trascritto. Per evitare ciò la cellula regola l'attività degli elementi che solitamente si trovano in uno stato ipermetilato e silenti, talvolta però, ad esempio durante la riprogrammazione epigenetica, viene a mancare la repressione e gli elementi sono attivati. Generalmente la trasposizione porta con sé conseguenze negative sulla cellula: rottura e instabilità del DNA, interferenza nella trascrizione e maturazione dell'mRNA, ecc.. ma in rare eccezioni e alla base della comparsa di nuovi geni o del riarrangiamento genico. Per le loro caratteristiche possono anche entrar a far parte del genoma come sequenze regolatrici cis creando nuove reti di regolazione.