

Univerzita Karlova v Praze
Pedagogická fakulta

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

2016

Zuzana Pošvářová

Univerzita Karlova v Praze
Pedagogická fakulta
Katedra biologie a environmentálních studií

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Mobilní elementy v lidském genomu

Mobile Elements in Human Genom

Zuzana Pošvářová

Vedoucí práce: RNDr. Edvard Ehler, Ph.D.
Studijní program: Specializace v pedagogice
Studijní obor: Geologie, biologie a environmentalistika

2016

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma Mobilní elementy v lidském genomu vypracovala pod vedením vedoucího práce samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Praze dne

.....

podpis

Poděkování

Na tomto místě chci poděkovat panu RNDr. Edvardu Ehlerovi, Ph.D. za odborné vedení, vstřícný přístup, cenné rady a čas, díky kterým jsem mohla tuto práci vytvořit.

ANOTACE

Předložená bakalářská práce se metodou sběru dat a překladů článků pokusí shrnout poslední zjištění na poli lidského genomu. V první části je představen lidský genom obecně, jeho struktura, velikost a funkčnost a v krátkosti je zde načrtnuta historie mapování lidského genomu. Jádro práce tvoří popis mobilních elementů v lidském genomu, jejich rozdělení a charakteristika jednotlivých druhů. V poslední části jsou pak porovnány viry a mobilní elementy u člověka.

KLÍČOVÁ SLOVA

lidský genom, DNA, RNA, transpozon, repetitivní sekvence, transpozice, retrovirus, evoluce, mobilní elementy

ANNOTATION

Through collecting and translating method this bachelor thesis endeavours to summarize last findings in the field of human genom. In the first chapter human genom itself, structure, size and functionality are introduced. In a short, brief history of the human`s genom mapping is summarised. The focus of this work constitutes of mobile elements in human genom description and characteristics and separating of individual types. In the last part human`s viruses and mobile elements are compered.

KEYWORDS

Human genome, DNA, RNA, transposon, repetitive sequences, transposition, retrovirus, evolution, mobile elements

Seznam zkratek

DNA	deoxyribonukleová kyselina (deoxyribonucleid acid)
dsRNA	dvouřetězcová RNA (double straight RNA)
HERV	lidský vnitrobuněčný virus (human endogenous retrovirus)
HIV	syndrom selhání imunity u člověka (human immunodeficiency virus)
HGP	projekt mapování lidského genomu (human genom program)
HUGO	organizace na výzkum lidského genomu (Human Genome Organisation)
IR	rozptýlené repetice (Interspersed Repeats)
LINE	dlouhé rozptýlené jaderné elementy (long interspersed nuclear elements)
LTR	long terminal repeats (dlouhé koncové repetice)
NAHR	nealelní homologická rekombinace (non allelic homologous recombination)
non-LTR	element bez dlouhých koncových repetice (non-long terminal repeats element)
ORF	otevřený čtecí rámec (open reading frame)
RNA	ribonukleová kyselina (ribonucleic acid)
RNAi	RNA interference (RNA interference)
SINE	krátké rozptýlené jaderné elementy (short interspersed nuclear elements)
siRNA	malé interferující RNA (small interfering RNA)
TE	transponovatelné elementy (transpozony)
TERT	telomeráza reverzní transkriptáza
TIR	koncové obrácené repetice (terminal inverted repeats)
TR	tandemové repetice (tandem repats)
VNTR	variabilní počet tandemových repetice (variable numbers of tandem repeats)

Obsah

Obsah	10
1 Úvod.....	11
2 Lidský genom.....	12
2.1 Struktura a velikost lidského genomu.....	13
2.2 Funkčnost lidského genomu	13
2.3 Historie mapování lidského genomu	16
3 Mobilní elementy v lidském genomu.....	18
3.1 Rozdělení mobilních elementů	19
3.1.1 DNA transpozony	20
3.1.2 Retrotranspozony.....	21
3.2 Transpozony a lidský genom	27
4 Transpozony a evoluce.....	31
4.1 Vliv transpozonů na evoluci lidského genomu.....	33
5 Transpozony a viry.....	36
6 Závěr	39
7 Seznam použitých informačních zdrojů.....	41

1 Úvod

Dnešní doba je ve znamení rychlého pokroku. Ve vědeckých oblastech je tento pokrok ještě podpořen převratným vývojem na poli techniky, elektroniky a elektrotechniky. Vynálezy právě v těchto odvětvích nám pomáhají poznávat nové světy; ať už to jsou cizí planety vzdálené od nás miliony světelných let nebo miniaturní světy uvnitř nás samotných.

Ve své bakalářské práci se věnuji právě světu uvnitř lidských buněk. Zkoumání lidského genomu je v současné době asi nejrychleji se rozvíjejícím odvětvím na poli biologických věd. Ještě před sto padesáti lety se lidé domnívali, že člověk je naprosto jedinečný tvor z hlediska chování i genetického vybavení. Před padesáti lety bylo zkonstatováno, že DNA je nositelkou jediné genetické informace u člověka, před třiceti lety byl poprvé zmapován lidský genom a osekvenování lidského genomu roku 2003 pak vedlo ke zjištění, že je vše úplně jinak. Velké množství lidské jaderné DNA není tvořeno geny. Samotné geny tvoří pak jen 30 % z celého lidského genomu. Převážná část těchto genových oblastí ale nic nekóduje, tvoří ji introny, pseudogeny a genetické fragmenty. Do podoby proteinů se překládá jen zlomek (1,2 %) z těchto genových oblastí.

Více než polovinu našeho genomu pak tvoří opakující se sekvence DNA (repetice), o kterých se donedávna mělo za to, že nemají žádnou funkci (tak zvaná „junk“ DNA, z angl.: junk - staré haraburdí). Transpozony neboli mobilní elementy tvoří pak podstatné zastoupení v těchto sekvencích. Tyto elementy jsou trvalou součástí genomu a mohou se na něm libovolně pohybovat a zapříčinit jeho někdy i nezvratné změny.

Genetika člověka je velmi mladý vědní obor, který se ale velmi rychle rozvíjí a neustále získává nové a nové informace. Cílem mé bakalářské práce je shromáždit a uceleně podat informace o současných vědomostech a nejaktuálnějších faktech, která se týkají mobilních elementů v lidském genomu. Pokusím se podat stručný přehled jednotlivých druhů a popsat jejich vlastnosti. Nastíním evoluční význam těchto retroelementů v současné podobě. Porovnáám životní cyklus virů a mobilních elementů u člověka.

2 Lidský genom

Pojem genom obecně označuje soubor veškeré genetické informace v jednom daném organismu. U většiny nám známých organismů je genetická informace uchována ve formě deoxyribonukleové kyseliny neboli DNA (z angl.: DeoxyriboNucleic Acid). Výjimku tvoří některé viry, jejichž genetická výbava je zapsaná do RNA (z angl.: RiboNucleic Acid). Genom prokaryotických organismů (bakterií) je tvořen většinou pouze jednou molekulou dvouřetězcové DNA, která je stočená do kruhu (cirkulární), je uložena volně v cytoplasmě buňky, a plasmidy (malé kruhové molekuly DNA, které se můžou stát součástí hlavní molekuly DNA při jejím rozevření). Naproti tomu eukaryotický genom je uložen z velké části v jádru buňky a v semiautonomních organelách (mitochondrie a u rostlin plastidy).

Genom člověka tvoří tedy molekula dvou řetězců DNA v jádře buňky a několik tisíc kruhových molekul DNA v mitochondriích. Mitochondriální DNA u člověka se rozumí malé kružnicovité molekuly DNA (podobné bakteriální DNA), které jsou podle endosymbiotické teorie pozůstatkem bakteriální nákazy. Jedním z důkazů, který hovoří pro tento fakt, je zachování vlastní genetické informace v těchto buněčných organelách. Podobně je tomu i u rostlinných chloroplastů (semiautonomní organely¹).

Lidský genom je velmi rozmanitý a nestabilní prostor. Obsahuje mnoho prvků s rozdílnými funkcemi. Dříve vědci předpokládali, že obsahuje pouze geny důležité pro existenci jedince, ale důkladný výzkum a výtěžky moderní technologie ukázaly nesoulad s předpoklady. Genom u člověka obsahuje jen velmi malé množství transkribovaných genů. Naopak jeho velkou součástí jsou negenové oblasti a repetice DNA. Rozlišujeme repetitivní sekvence tandemové, jejichž hlavní součástí jsou satelity, minisatelity a mikrosatelity a repetice rozptýlené, kam řadíme hlavně retroelementy skupiny LINE a SINE. Samotné oblasti s geny ještě nemusí kódovat geny. Až 90 % z těchto sekvencí je tvořeno introny, pseudogeny či genetickými fragmenty (Kejnovský and Hobza, 2009).

¹ Endosymbiotická teorie vysvětluje vznik současné eukaryotické buňky endosymbiózou (pohlčením a následnou symbiózou) původní anaerobní eukaryotické buňky a protomitochondrie. Vznik rostlinné buňky je pak výsledkem splynutí již existující eukaryotické prabuňky s mitochondrií a protochloroplastem (fotosyntetizující cyanobakterie). Důkazem této teorie je genetická nesamostatnost semiautonomních organel, několikvrstvá membrána na povrchu organel a u některých pozůstatek jádra původních symbiontů – nukleomorf. Několikvrstevná membrána svědčí o tom, že toto „pohlčení“ mohlo proběhnout i vícekrát za sebou (Rosypal 2003).

2.1 Struktura a velikost lidského genomu

Lidská DNA je v jádru buňky uložena v podobě spiralizované dvoušroubovice, chromozomu. V jádře každé lidské buňky je 46 chromozomů. S výjimkou buněk pohlavních jsou lidské buňky diploidní (obsahují dvě identické sady chromozomů), to znamená, že genetická informace je zapsána v jádře každé somatické buňky hned dvakrát. Každý chromozom je tvořen dvojitým řetězcem DNA. Jak DNA jaderná, tak mitochondriální je tvořena řetězcem nukleotidů. Pro pozdější snazší pochopení textu by bylo vhodné si strukturu DNA stručně osvětlit. Nukleotid je chemická látka složená z cukru deoxyribózy, zbytku kyseliny fosforečné a dusíkaté báze: purinové (adenin a guanin) a pyrimidinové (tymin a cytosin). Dvojice bází jsou k sobě komplementární a pojí se vodíkovými můstky (adenin se páruje s tyminem a cytosin s guaninem). Naproti tomu sousední nukleotidy v řetězci jsou spojeny fosfodiesterovou vazbou. V důsledku těchto spojení mají oba řetězce rozdílná zakončení, protože se báze k sobě musí navzájem natáčet. Označujeme je 3' konec a 5' konec. Na 3' konci přesahuje cukernatý zbytek a na 5' konci pak fosfátový.

Jaderná DNA u člověka se může rozložit do 23 párů chromozomů, a kdyby se všechny rozmotali a natáhli, měly by celkovou lineární délku o délce asi 1 metr. Lineární velikost však v tomto případě neposkytuje to správné měřítko. Velikost genomu se v genetice udává v počtu párů bází (pb) (Bowen and Jordan, 2002). Lidský chromozom má v jádře velikost 3,545 835 014 miliardy párů bází, což představuje asi 20 296 genů (El. zdroj 1).

S mimojadernou DNA je to složitější, protože každá lidská buňka může obsahovat až několik set mitochondrií a každá mitochondrie obsahuje hned několik molekul DNA. Velikost jedné mitochondriální kruhové DNA je 16 569 bp a kóduje 37 genů.

2.2 Funkčnost lidského genomu

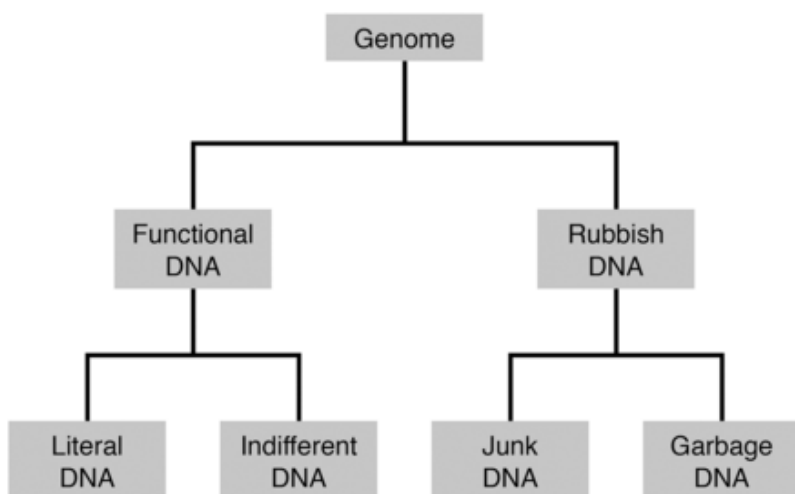
Na počátku výzkumu lidského genomu, jeho sekvenování, věci předpokládali, že naleznou velké množství genů, tedy, že je složen pouze z funkčních částí, a to takových, které jsou nějakým způsobem užitečné, které se projevují. Později se ale přišlo na to, že celá DNA je tvořena těmito funkčními celky jen z malé části tak i nefunkčními, tedy takovými, které nemají v nukleotidovém řetězci zdánlivě žádné využití. Současné analýzy dostupných zdrojů však potvrdily, že ve skutečnosti těch aktivních sekvencí není ani polovina, ale že i ty zdánlivě nefunkční má nebo v nedávné době měla svůj význam.

Studie genomu prokázaly všudypřítomnou aktivitu na velmi velké části genomu včetně nekódujících oblastí a opakujících se sekvencích, které obsahují repetece, včetně transpozonů² (Brunet and Doolittle, 2015).

Lidský genom lze tedy rozdělit na části, které kódují sekvence pro translaci proteinů a na oblasti, které tuto vlastnost nemají. Exony pak tvoří jen malou část genomu. Jsou to sekvence DNA, které ve svém pořadí bází kódují funkční genetickou informaci (protein-coding sekvence), přibližně podle 1,2 % těchto sekvencí se pak transkripcí tvoří mRNA a po translaci na ribozomech proteiny. Asi jednu pětinu genomu tvoří jiná mezigenová DNA, jako jsou regulační sekvence, pseudogeny³ a genové fragmenty. Největší část, asi 50 %, pak tvoří repetitivní sekvence⁴ genomu, a to jak tandemové (jdoucí za sebou), tak i disperzní (rozptýlené, kam patří většina transpozonů).

Projekt ENCODE vytvořil klasifikační schéma jednotlivých funkčních částí DNA (obr. 1).

Celkem byly stanoveny čtyři různé funkční kategorie DNA, z nichž se všechny můžou účastnit transkripce⁵ ale ne translace⁶, nebo nemusí být transkripovány vůbec.



Obrázek 1

Evoluční klasifikace DNA podle její konečné funkce v genomu.

(převzato z Graur et al. 2015)

První rozdělení na dva celky je klasifikace „functional“ DNA (funkční DNA), která má funkci výběru, a „rubbish“ (odpadní) DNA, která ji nemá. Příslušnost k určité funkční skupině se může během evoluce měnit a střídat (Graur et al., 2015).

² Viz dále v textu.

³ Pseudogeny viz dále.

⁴ Repetitivní sekvence je opakující se část DNA řetězce. V genomu může být navázána za sebou nebo různě rozložena.

⁵ Transkripce je přepsání genetické informace z DNA do RNA.

⁶ Translace je překládání genetické informace z RNA do primární podoby bílkovin.

„Functional DNA“

„Functional“ DNA je pak dále rozdělena na „literal“ DNA (skutečnou), kde pořadí nukleotidů podléhá selekci, a „indifferent“ DNA (netečnou), kde právě pouze přítomnost či nepřítomnost určité sekvence podmiňuje její selekci.

Podle posledních zveřejněných studií ENCODE lze samotnou DNA pak rozdělit na několik druhů. Můžeme tedy říci, že skladba lidského genomu zahrnuje funkční a nefunkční části. Funkční součást je udržována v genomu přírodním výběrem právě kvůli své funkci a vždy se jedná o funkci, kterou má právě v tuto chvíli, protože i ta se může během evoluce měnit (Graur et al. 2015).

Do této skupiny patří funkční geny, které kódují proteiny, specifické pro geny RNA a přepisované kontrolní elementy. V „literal“ DNA je pořadí nukleotidů podřízeno selekci.

„Indifferent“ DNA obsahuje segmenty, které jsou funkční a potřebné, ale mají ve výsledku jen malý význam a jejich pořadí není důležité. Plní takové funkce jako vymezení či vyplnění prostoru nebo ochranu proti posunu čtecího rámce (Graur et al., 2015).

„Rubbish“ DNA

„Rubbish“ DNA je poté rozdělena do tzv. „junk“ DNA a „garbage“ DNA. „Junk“ DNA ani nepřispívá, ani neubírá na fitness⁷ organismu a tím pádem se vyvíjí pod tlakem náhodného výběru. V českém překladu termín „junk“ znamená haraburdí, veteš. Graur ve své práci *An Evolutionary Classification of Genomic Function* z roku 2015 přirovnává: *„junk“ DNA k nahromaděnému harampádí na půdě. „Víme o něm, že tam je, zatím ho k ničemu nepotřebujeme, ale máme ho tam, protože by se jednou mohlo hodit“* (Grauer et al. 2015). Výsledky projektu ENCODE tedy potvrdily, že pojem „junk“ DNA není jen prázdná DNA, která nemá žádnou funkci, ale naopak, že ji někdy měla nebo v budoucnu možná mít bude. V současné době víme, že může hrát důležitou roli pro regulaci buněk či orgánů. Především informací, můžeme soudit, že celkově je tedy funkčních 80,4 % lidského genomu (Brunet and Doolittle, 2015).

„Garbage“ DNA naopak jen snižuje fitness svých nositelů (chromozomů). Existuje v buňkách jen proto, že přírodní výběr není ani všemocný ani okamžitý (Graur et al. 2015). Český doslovný překlad pak může znít „odpadky, smetí“.

⁷ „Fitness organismu je očekávaná schopnost organismu přežít a množit se. Tato schopnost se měří počtem přežívajících potomků (Brookfield, 2005).

Je až zarážející, že z celkového počtu 20 296 genů je přepisováno do molekuly RNA jen malé množství genů. A jen velmi malé procento této RNA je pak schopno vycestovat z jádra, aby mohla být přeložena do pořadí aminokyselin a vytvořit funkční protein. Celkové využití lidského genomu se odhaduje na pouhých 1,2 % z celkového počtu genů u člověka. Počet aktivních částí a přepisovaných oblastí může být ale až 80,4 % (Brunet and Doolittle, 2015). Za tak velké procento transkripce můžou mobilní elementy, které se pohybují po genomu a právě díky jejich specifické vlastnosti vkládání na nová místa v genomu, můžou způsobit různé změny v genomu, mimo jiné i aktivaci některých nepřepisovaných sekvencí.

Kolata (in Brunet Tyler and Doolittle 2015) uvádí: „Lidský genom je tvořen minimálně 4 miliony genových vypínačů, které byly dříve pojmenovány jako „junk“ DNA, ale tento názor se brzy změnil poté, co se zjistilo, že tato DNA je důležitá pro kontrolu chování buněk a tkání.“

Můžeme tedy usuzovat, že tyto spínače, které jsou zodpovědné za aktivace některých nepřepisovaných částí genomu, mohou být umístěny na transpozonech nebo jimi jsou právě ony.

2.3 Historie mapování lidského genomu

Od průlomového zjištění, totiž že veškerý život na naší planetě je řízen geny, lidé toužili poznat i svůj vlastní původ, přečíst svou genetickou informaci. Od prvního určení struktury deoxyribonukleové kyseliny na začátku 20. století přes její první umělé naklónování v 70. letech se ve výzkumech dostali až k prvním poznatkům o pořadí bází v nukleotidu. To vše směřovalo k úspěšnému přečtení lidského genomu.

Důležitý milník ve 20. století, pro pokrok v oblasti genetiky a mapování lidského genomu, který začal v Americe a byl příhodně nazván „Projekt lidského genomu“ HGP (Human Genom Project).

Byl to odvážný mezinárodní vědecký projekt výzkumu, který si vytýčil za cíl přečíst celou lidskou DNA. Jelikož se jednalo o mezinárodní projekt, začala se mezi lety 1988 a 1990 tvořit Organizace na výzkum lidského genomu (HUGO - Human Genome Organisation), právě pod záštitou HGP.

Na začátku se zapojilo 48 vědců ze sedmnácti zemí světa, později se tento počet zvýšil na více než 1800 členů z 87 zemí světa (především pak Spojené státy americké, Německo, Francie, Japonsko a Čína). Základním úkolem bylo do roku 2005 vytvořit genetické mapy celého lidského genomu, objevit všechny lidské geny, které se v genomu nacházejí a zjistit jeho vlastnosti. Celý projekt byl financován z veřejných zdrojů. Původní odhady byly velmi optimistické a vědci doufali, že se od

ostatních živočichů lidé odlišují mnoha geny a počet genů v lidském genomu odhadovali na 80 až 120 tisíc. Výsledky však ukázaly, že počet genů v lidském genomu je pouhých 20 - 30 tisíc.

Naopak o stavbě a složení genů se oproti původním předpokladům vědci dozvěděli mnohem více o jeho složitosti. Lidský genom obsahuje podobný počet genů, jako mají někteří bezobratlí živočichové, ale kódování je mnohem komplikovanější: člověk dokáže z těchto genů vytvářet větší množství různých bílkovin.

První verze čtení DNA, nástin pořadí sekvencí, byla vystavěna v červnu roku 2000. V roce 2001 byl dokončen draft lidského genomu a o dva roky později byl zveřejněn přečtený celý lidský genom.

Společně s touto mezinárodní organizací soutěžila i soukromá biotechnologická laboratoř Celera Genomics, Inc. ze Spojených států amerických. Z počátku využívala poznatky z HGP a později publikovala své výsledky na vlastních webových stránkách ovšem pouze pro komerční účely.

Výsledky tohoto mezinárodního projektu jsou dostupné ve veřejných databázích, které obsahují více než 100 miliard párů bází (100 Gbp) od více než 160 000 různých organismů. Jsou to:

- GenBank, National Center for Biotechnology Information NCBI, USA
- National Center for Biotechnology Information NCBI, USA
- EMBL-Bank, Embl's European Bioinformatics Institute, UK
- DNA Data Bank of Japan

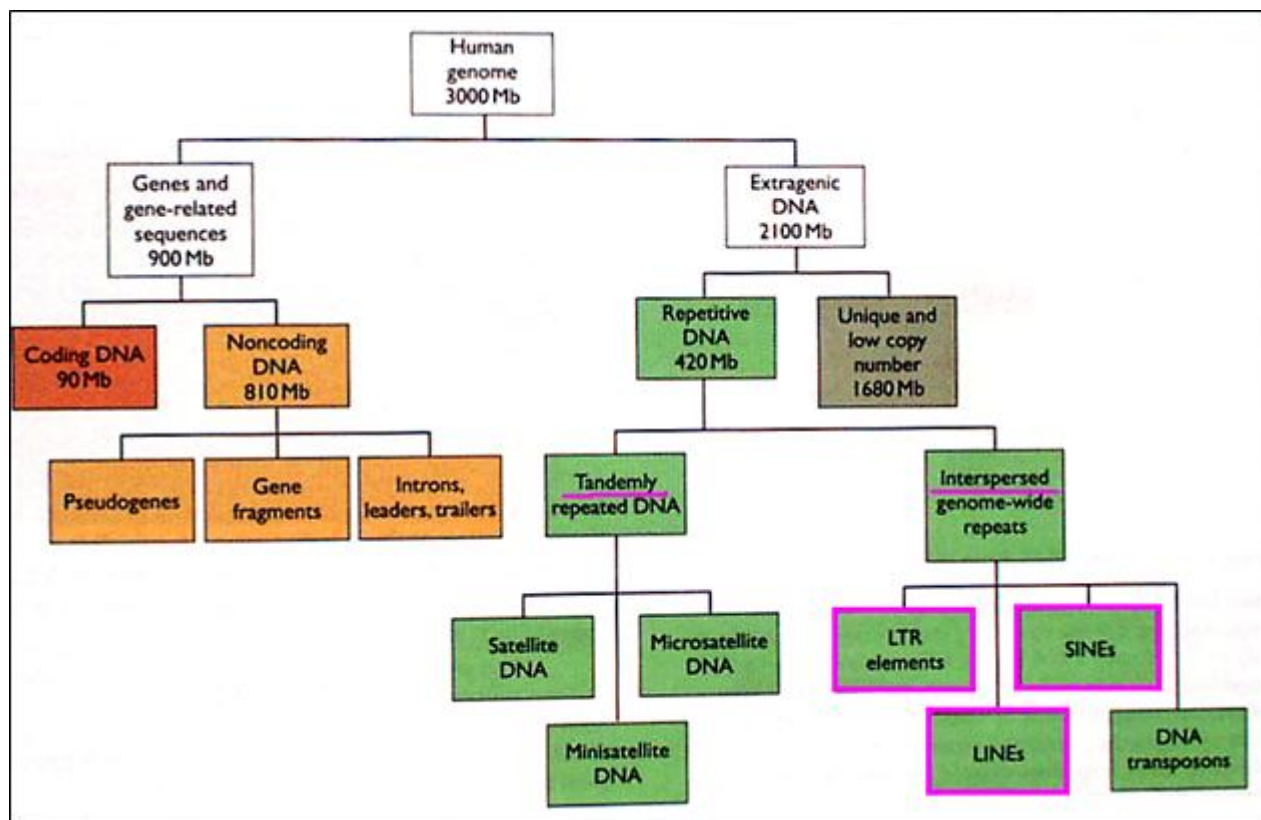
Jedním z dalších projektů, které vznikly v návaznosti na tento projekt, je HapMap, což je v podstatě mapa haplotypů lidského genomu. Pomáhá vědcům při určování a hledání různých zdrojů onemocnění. Je to velmi cenný zdroj pro studium genetických odchylek a onemocnění.

3 Mobilní elementy v lidském genomu

Ještě než byl přečtený lidský genom se vědecká obec domnívala, že tato oblast je poměrně stálá a neměnná a obsahuje velký počet genů. Výzkumy z posledních let však ukazují, že se jedná o celkem aktivní a stále se vyvíjející oblast, i když s daleko menší genetickou výbavou, zato však s větší rozmanitostí ostatních částí DNA. Lidský genom obsahuje celkem 20 296 genů. Průměrná délka jednoho genu je u člověka je 30kb.

Největší prostor v lidské DNA zaujímají již výše zmíněné repetice DNA, dále pak jedinečné sekvence, kódující a nekódující DNA. Kódující DNA obsahuje geny pro transkripci a nekódující sekvence jsou označovány jako pseudogeny a jiné genové fragmenty.

Právě repetitivní sekvence v lidském genomu mají na svědomí původní špatné odhady vědců. Celkový objem genomu odpovídal právě daleko většímu výskytu genů. Další překvapení nastalo poté, co vědci spočítali počet genů i u jiných organismů a přišli na to, že i mnohem menší a vývojově jednodušší organismy mají podobný počet genů jako má člověk. Neplatí zde tedy přímá úměra, že čím větší genom, tím více genů obsahuje. Právě naopak velikost genomu nesouvisí s vývojovým stupněm organismu. Tento jev se nazývá „paradox hodnoty C“ („The C Value Paradox“).



Obrázek 2 Schéma rozdělení genové a negenové DNA v lidském genomu (převzato z Kejnovsky and Hobza, 2009)

Co tedy tvoří celý zbytek genomu a proč tam vůbec je? (obr. 2)

Repetitivní DNA jsou často se opakující sekvence (kopie) v řetězci DNA. Můžeme je rozdělit na tandemové repetice (Tandem Repeats – TR), což jsou jednotlivé kopie sekvencí vkládané přímo v řadě za sebou. A rozptýlené repetice (Interspersed Repeats - IR), které se vyskytují v genomu jednotlivě a vznikají transpozicí a souhrně je nazýváme mobilní genetické elementy (Transposable Elements - TE).

Celá molekula DNA je vlastně pořád v pohybu v důsledku všech genomových přestaveb⁸. Jako viníka způsobujícího tuto velkou nestabilitu lidského genomu můžeme označit právě mobilní elementy neboli transpozony neboli „skákájící geny“, které se pomocí svých kopírovacích mechanismů mohou pohybovat v lidském genomu z místa na místo. Mezi jedinci se poté můžou šířit jak vertikálním přenosem (z rodičů na potomky), tak horizontálním (virovou nákazou mezi jedinci či druhy). Zajímavé je, že tyto elementy se nacházejí ve značné míře u všech eukaryot, v lidském genomu mohou zabírat až 90 % jaderné DNA. Svě zastoupení, i když v menší míře, mají i u prokaryot.

3.1 Rozdělení mobilních elementů

Pohyb transpozonů umožňuje specifický kopírovací mechanismus; odtud pak vyplývá i jejich třetí název „skákájící geny“, protože mohou volně „přeskakovat“ z místa na místo po celém genomu.

Podle způsobu jejich transpozice (přesunu), přesněji řečeno podle druhu meziproductu nukleové kyseliny, který pro svou transpozici využívají, je můžeme rozdělit na dvě velké skupiny.

DNA transpozony se mobilizují pomocí DNA mediátu a retrotranspozony pomocí RNA. Dále lze oba typy odlišit podle toho zda jejich sekvence kódují proteiny, pro zprostředkování jejich vlastní mobility (autonomní prvky) nebo zda se spoléhají na proteiny ostatních TE (neautonomní prvky) (Beck et. al. 2011).

⁸ Chromozomové mutace DNA se dějí pomocí mutací části nukleotidového řetězce. Jedná se o substituci (mutace záměnová, záměna nukleotidů nebo celých párů nukleotidů v nukleových kyselinách, což může vést ke změně smyslu kodónu, nebo jeho funkce), delecii (mutace posunová, která vede ke ztrátě jednoho nebo více genů z nukleotidové sekvence) a inzerci (též mutace posunová, která má za následek vložení jednoho nebo více nukleotidů do nukleotidové řetězce). Všechny mutace pak mají za následek změnu čtecího rámce genomu (Rosypal 2003).

3.1.1 DNA transpozony

Dna transpozony jsou autonomní mobilní elementy, dnes známé spíše z genomů prokaryot (bakterií), ale vyskytují se i u eukaryot, i u člověka, kde představují v současné době asi 2-3 % genomu. V současné době už nejsou tyto elementy v lidském genomu aktivní a nepohybují se. Během vývoje ztratily tuto schopnost v důsledku nahromadění mutagenních změn. Existují však odhady, že ještě před 37 miliony let během evoluce primátů tuto vlastnost měly (Beck et al. 2011).



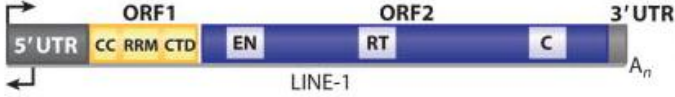
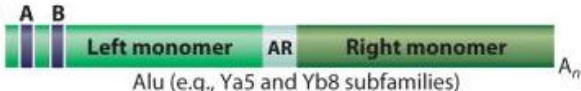

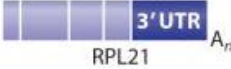
Většina DNA transpozonů se pohybuje po genomu pomocí mechanismu „cut and paste“ (vyjmout a vložit). Počet těchto elementů je v genomu stabilní, protože se nové kopie netvoří, jen se přesouvají z místa na místo. Prostředníkem pro kopírování je samotná DNA a její enzymy, během tohoto kopírování tedy nedochází k přepisování části genomu do přechodné RNA, ale rovnou do DNA.

Hlavní část tohoto transpozonu tvoří sekvence kódující enzym transpozázu. Tyto sekvence mají na obou svých koncích navázanou koncové invertní repetice TIR (Terminal Inverted Repeats) (Obr.3).

Mechanismus přemísťování má na starost právě enzym transpozáza. Transpozáza nejdříve rozezná TIR, přiloží obrácené inverzní sekvence TIR k sobě, poté vystřihne DNA transpozony z původního místa v chromozomu a spojí oba volné konce DNA. Celý komplex DNA transpozonu a enzymu transpozázy se pak společně naváže na novou specifickou sekvenci v řetězci DNA. Tento enzym poté rozštěpí řetězec DNA, vloží DNA transpozon na nové místo a volné konce opět slepí k sobě. (Beck et al. 2011 a Courdaux and Btzer, 2009).

Jak se ukázalo, DNA transpozony pravděpodobně měly trvalý účinek na lidský genom. Příkladem může být rekombinace, která aktivuje enzymy RAG1 a RAG2, je důležitý pro V(D)J⁹ rekombinaci a vývoj imunitního systému. Tento element byl domestikován lidským genomem asi před 500 miliony lety (Beck et al., 2011).

⁹ V (D) J je proces kódování proteinů pro imunitní systém. jde o proces, při kterém T-buňky a B-buňky imunitního systému náhodně sestaví rozdílné genové segmenty, známé jako Variable (variabilní), Diversity (rozdílné), Joining (spojené) geny, kvůli vytvoření unikátního receptoru (antigen receptor), který může rozpoznávat mnoho rozlišných typů molekul (www.nature.com).

Type of mobile element	Example structure	non percentage	Active?
DNA transposons			
Transposons		~3%	No
	Mariner		
Retrotransposons			
Autonomous retrotransposons			
LTR retrotransposons		~8%	Uncertain (none known)
	HERV-K		
Non-LTR retrotransposons		~21%	Yes
	LINE-1		
Nonautonomous retrotransposons			
SINEs		~10%	Yes
	Alu (e.g., Ya5 and Yb8 subfamilies)	<1%	
		~2,700 copies	
Processed pseudogenes		<1%	
	RPL21	~11,000 copies	

Obrázek 3 Typy mobilních elementů v lidském genomu (převzato z Beck et al. 2011)

3.1.2 Retrotranspozony

Retrotranspozony jsou v lidském genomu zastoupeny v daleko větší míře a některé jsou stále ještě aktivní. Jejich celkové rozšíření v lidském genomu se odhaduje až na 45 %. Pro pohyb po genomu využívají RNA intermediát (zprostředkovatelem je RNA). Potřebují k tomu ještě enzym RNA polymerázu. Všechny retrotranspozony uchovávají ve svém jádru kompletní gen pro enzym reverzní transkriptázy. Reverzní transkriptáza je právě ten enzym, který zajišťuje přepis transpozonu do pořadí sekvencí RNA bází a následně pak reverzní přepis do cDNA (komplementární DNA, které je na novém místě včleněna do DNA hostitele). Jedná se právě o podobný princip reverzní transkripce (zpětného přepisu) jako u retrovirů (HIV) a porušení dogmatu molekulární biologie, o kterém jsem se ve své práci zmiňovala na začátku. V genomu jsou hojně rozšířené právě kvůli tomuto kopírovacímu mechanismu, kdy jsou nově vzniklé kopie vloženy na nové místo a staré zůstávají na svých původních pozicích. Mechanismem „copy and paste“ (zkopírovat a vložit) dochází tedy ne k přesunu, ale ke zdvojení tohoto retrotranspozonu v genomu.

Retrotranspozony můžeme rozlišit na dvě skupiny. Na autonomní retrotranspozony, které v sobě kódují proteiny důležité pro vlastní transpozici, a neautonomní, které tyto podstatné proteiny nemají

a musejí tak využívat enzymy ostatních mobilních elementů pro svůj pohyb po genomu. I když autonomní retrotranspozony obsahují důležitý gen pro svou transpozici, přesto jsou do určité míry závislé na hostitelských enzymech, jako je RNA polymeráza a enzymy opravy pro DNA.

Lze je také rozdělit podle toho, jestli obsahují dlouhé koncové repetice (LTR) nebo nikoliv (non-LTR).

LTR retrotranspozony

LTR retrotranspozony jsou vlastně lidské endogenní retroviry (HERV Human Endocell RetroVirus), tedy vnitrobuněční parazité. Podobají se virům nejen strukturou, ale i pohybem po genomu. Je možné, že se dříve jednalo o nějaký provirus, který během soužití v hostitelském organismu našel cestu symbiózy. Tento fakt může podporovat i důkaz stejného kopírovacího mechanismu. HERV se do lidského genomu dostaly přibližně před 25 miliony let a v současné době je jejich aktivita u lidí velmi omezená. HERV byl u člověka nalezen neporušený, avšak nefunkční, protože většina obsahuje nefunkční gen ENV (z angl.: envelope – obálka). Tento gen kóduje enzym pro tvorbu virové kapsule, jež umožňuje po pomnožení viru opustit hostitele, a tím degraduje jejich existenci na pouhé vnitrobuněčné přežívání (Beck, 2011).

U většiny z nich se nahromadilo velké množství nesmyslných mutací a dlouhých nekódujících sekvencí (Prak and Kazazian, 2002 a Solyom and Kazazian, 2012).

Tyto elementy a jejich neautonomní deriváty tvoří dnes asi 7-8 % lidského genomu. Jejich průměrná délka je 7-9 kb, ale jejich malá část je polymorfní, což může ukazovat na to, že v určité evoluční fázi člověka měly tyto elementy schopnost retrotranspozice. Navíc některé HERV elementy obsahují čtecí rámec ORF (viz dále)(obr.3) a při znovuoživení retroviru HERV v laboratorních podmínkách se ukázalo, že tento virus má schopnost být aktivní (Beck et al. 2011).

I když jsou tyto elementy v lidském genomu nefunkční, neznamená to, že nemůžou mít vliv na svého hostitele. Různé příklady uvádím v jedné z následujících kapitol.

Non-LTR retrotranspozony

Retrotranspozony bez LTR neobsahují dlouhé koncové repetice a tvoří dnes většinu mobilních elementů v lidském genomu. Jejich velké množství je výsledkem jejich současné i minulé aktivity.

Jsou to jediné mobilní elementy v lidském genomu, u kterých bylo prokázáno, že jejich vložení a následná aktivizace způsobila genetické poruchy (Cordaux and Batzer, 2009).

Tento druh retrotranspozonů lze rozdělit na dvě velké podskupiny: LINE a SINE.

Skupina elementů LINE

LINE jsou, jak už název napovídá, dlouhé rozptýlené jaderné elementy (Long Interspersed Nuclear Elements 1). U člověka jsou známy celkem tři rodiny těchto elementů: LINE 1, 2 a 3. Dohromady mohou tvořit až 21 % celého lidského genomu, samotná podskupina L1 tvoří asi 17 %. Značná většina elementů z této skupiny patří do podskupiny LINE-1 (L1). Budu tedy vlastnosti podskupiny L1 vztahovat na celou skupinu LINE.

L1 elementy jsou jediné autonomní a aktivní elementy v lidském genomu. Některé z nich jsou stále schopné retrotranspozice. Jejich celkový počet se odhaduje na 500 000, většina kopií L1 byla však během dlouhé doby vývoje inaktivována zkrácením, vnitřními přesmyky anebo jinými mutacemi. V dnešní době se odhaduje, že je funkčních méně než sto kopií.

L1 elementy jsou jediné známé autonomně aktivní v oblasti lidských retrotranspozonů a tvoří přibližně jednu šestinu našeho genomu. Více než 99,9 % L1 bylo deaktivováno 5' zkrácením, inverzí, a/nebo bodovými mutacemi v rámci dvou L1-kódovaných ORF (Beck et al. 2011).

Jejich značné rozšíření je přičítáno jejich mobilizační činnosti za posledních 150 milionů let (Cordaux and Batzer, 2009). O jejím rozšíření hovoří i fakt, že L1 reverzní transkriptáza obsahuje sedm zachovalých sekvencí, které jsou sdíleny mezi všemi retrotranspozony a retroviry (Prak and Kazazian, 2002).

Elementy L1 mají délku přibližně 6 kb a mohou se v genomu opakovat 20 až 50 000krát. Skládají se z několika oblastí. 5' oblast UTR (Untranslated Region) v této oblasti sídlí promotor¹⁰ RNA polymerázy, který řídí transkripci od 5' konce, dále pak dva čtecí rámce ORF1 a ORF2, kdy ORF1 kóduje RNA, která je schopna vázat protein, a ORF2 kóduje protein s endonukleázou a aktivní reverzní transkriptázu (Cordaux and Batzer, 2009) a 3' konec UTR, který je přerušován

¹⁰ „Promotor je regulační oblast obsahující specifické nukleotidové sekvence, na které se váže RNA polymeráza, případně jiné proteiny podmiňující zahájení transkripce“ (přepisu genetické informace z DNA do RNA) (Rosypal 2003).

polyadenilačním signálem s proměnlivou délkou koncové části (poly (A)) také obsahuje vazebná místa pro některé další transkripční faktory (Hancks and Kazazian, 2012). Tento celý molekulární mechanismus umožňuje celý proces reverzní transkripce, a proto jsou L1 elementy jediné autonomní transpozony v lidském genomu (Cordaux and Batzer, 2009).

L1 elementy jsou schopné retrotranspozice na nová místa v genomu nejen své vlastní genetické informace (RNA), ale i RNA některých dalších mobilních elementů jako na příklad Alu, SINE-VNTR-Alu (SVA) elementy prostřednictvím genu pro reverzní transkriptázu (Hancks and Kazazian, 2012). Mimo jiné může L1 mobilizovat neautonomní retrotranspozony, ostatní nekódující RNA a mRNA, což vede k vygenerování tak zvaných „processed pseudogenů¹¹“. Tím L1 jako zprostředkovatel retrotranspozice vyrábí až třetinu našeho genomu. Konkrétně existuje 8 000 až 15 000 kopií právě těchto processed pseudogenů v lidském genomu a většina z nich je odvozena od genů, které jsou vysoce exprimovány v zárodečných buňkách (Beck et al. 2011).

Skupina elementů SINE

Neautonomní mobilní elementy-SINE jsou krátké rozptýlené jaderné elementy (Short Interspersed Nuclear Elements). Tyto elementy nekódují žádný enzym potřebný pro svou transpozici. Musí spoléhat na ostatní mobilní elementy, hlavně pak na L1, proto jsou neautonomní. Jejich délka bývá kratší než 500 pb. Do této skupiny řadíme elementy Alu a SRP (7SL RNA – Signal Recognition Particle - signál rozpoznávající částice).

Největší zastoupení u člověka mají Alu elementy. Je to výsledek jejich postupné mobilizace za uplynulých 65 milionů let. Celkový počet se odhaduje na více než 11 milionu kopií sekvencí, což činí asi 10 % z celého lidského genomu, a je to transpozon s nejhojnějším počtem kopií v lidské DNA. Jeho nejčastější průměrná délka je 280 pb. Má dimerní strukturu vytvořenou spojením dvou monomerů odvozených od 7SL RNA. Monomery jsou odděleny oblastí zvanou A-bohatý spoj (A-rich linker). 5' konec obsahuje interní polymerázu III, promotor. Element je ukončen oligo(dA)-rich tail s libovolnou délkou konce.

¹¹čáProcessed pseudogen vznikají reverzní transkripční mRNA. Jsou svou stavbou velmi podobní přepisovaným genům, ale ztratili schopnost kódovat protein. Různé metody umožnily určit v lidském genomu až 8 000 takovýchto kopií „processed pseudogen“. Jedná se jakési pozůstalé stopy po genech, které byly v lidském genomu dříve funkční. Jejich stáří může být až miliony let (Zhang et al. 2003).

V lidském genomu se jich nachází velké množství, jsou ale víceméně nefunkční. Mohou být kopírovány, ale nemohou být přeloženy (translace), protože jim chybí čtecí rámec ORF. Pro svůj pohyb po genomu využívají mechanismy ostatních mobilních elementů. Má se za to, že jsou úzce příbuzné s L1 elementy díky podobným kopírovacím mechanismům. Vkládání Alu elementů je pravděpodobně umožněno díky L1 endonukleáze (Prak and Kazazian, 2002). K pohybu po genomu využívají molekulárního vybavení zakódované na L1 elementech. Proto někdy může být tento Alu transpozon nazýván parazit parazita. (Cordaux and Batzer, 2009). Velké rozšíření Alu elementů mezi hostitelské organismy se udála přibližně před 6 miliony let.

Souhrn vlastností, které může Alu element vykonávat, je celkem široký. Můžou hrát roli při genové expresi. Na příklad invertované Alu elementy s 3' UTR některých buněčných RNA můžou způsobit změnu kyseliny adenosinu do inosinu, a tím způsobovat nečitelné změny v kódování proteinů. Alu elementy mohou být také začleněny do stávajících transkripčních jednotek, procesem známým jako exonizace (viz dále).

A v poslední řadě oblast s vysokou polyadenilační schopností (poly(A)tail), která obklopuje Alu elementy z obou stran, může sloužit jako zdroj pro generování mikrosatelitních sekvencí v lidské DNA (Beck et al., 2011).

Alu elementy

Největší zastoupení u člověka mají Alu elementy. Je to výsledek jejich postupné mobilizace za uplynulých 65 milionů let. Celkový počet se odhaduje na více než 1 milion kopií sekvencí, což činí asi 10 % z celého lidského genomu, a je to transpozon s nejhojnějším počtem kopií v lidské DNA. Jeho nejčastější průměrná délka je 280 – 300pb. Má dimerní strukturu vytvořenou spojením dvou monomerů odvozených od 7SL RNA. Monomery jsou odděleny oblastí zvanou A-bohatý spoj (A-rich linker). 5' konec obsahuje interní polymerázu III, promotor. Element je ukončen oligo(dA)-rich tail s libovolnou délkou konce.

V lidském genomu se jich nachází velké množství, jsou ale víceméně nefunkční. Mohou být kopírovány, ale nemohou být přeloženy (translace), protože jim chybí čtecí rámec ORF. Pro svůj pohyb po genomu využívají mechanismy ostatních mobilních elementů. Má se za to, že jsou úzce příbuzné s L1 elementy díky podobným kopírovacím mechanismům. Vkládání Alu elementů je pravděpodobně umožněno díky L1 endonukleáze (Prak, Kazazian 2002). K pohybu po genomu

využívají molekulárního vybavení zakódované na L1 elementech. Proto někdy může být tento Alu transpozon nazýván parazit parazita. (Cordaux, Batzer 2009). Velké rozšíření Alu elementů mezi hostitelské organismy se udála přibližně před 6 miliony lety.

Souhrn vlastností, které může Alu element vykonávat, je celkem široký. Můžou hrát roli při genové expresi. Na příklad invertované Alu elementy s 3' UTR některých buněčných RNA můžou způsobit změny bázi adenosinu do inosinu, a tím způsobovat nečitelné změny v kódování proteinů. Alu elementy mohou být také začleněny do stávajících transkripčních jednotek procesem známým jako exonizace (viz dále).

A v neposlední řadě oblast s vysokou polyadenilační schopností (poly (A) tail), která obklopuje Alu elementy z obou stran, může sloužit jako zdroj pro generování mikrosatelitních sekvencí v lidské DNA (Beck et al. 2011).

SVA elementy

SVA elementy (SINE-VNTR-Alu, variable numbers of tandem repeats) jsou SINE elementy s proměnlivým počtem repetic. Začaly kolonizovat lidský genom asi před 25 miliony lety. V současné době se pak nachází u člověka asi 2700 kopií. Průměrná délka těchto elementů činí 2- 5 kb a je složena z opakujících se oblastí – hexamerů, oblastí bohatých na Alu kopie a z oblasti, která je složena z různě dlouhých tandemových repetic. Další součástí pak tvoří oblast odvozené od lidského endogenního viru HERV-K10 a polyadenylační koncový signál oligo(dA)-rich s proměnlivou délkou. Stejně jako Alu elementy ani SVA elementy neobsahují žádný iniciační kodón, jsou tedy neautonomní a musí využívat transpozičních mechanismů ostatních transpozonů, zejména pak L1 (Cordaux, Batzer 2009). SVA elementy pro svou transkripci zřejmě používají RNA polymerázu II a výsledná RNA elementu je na nové místo v genomu přenesena pomocí proteinů z elementů L1 (Beck et al. 2011).

Ostatní non LTR retrotranspozony

Kromě v současné době aktivních transpozonů obsahuje lidský genom asi 6 % starobylých retrotranspozonů, které svou funkční aktivitu již ztratily. I když jsou mnohem méně početné než L1 a Alu prvky, tyto elementy poskytují bohaté molekulární „fosilní záznamy“, které dokazují velmi dlouhý vztah mezi transpozony a lidským genomem. Právě tyto starobylé elementy mohly mít podstatnou úlohu při formování lidského genomu (Cordaux and Batzer, 2009).

3.2 Transpozony a lidský genom

Je naprosto nepochybné, že transpozony mají velký vliv na lidský genom. Téměř polovina celé naší DNA je složena z tandemových i rozptýlených repetitiv. Objevil se i názor, že lidská DNA by mohla být naplněna transpozony dokonce až ze dvou třetin. Je pravda, že většina z nich je vlivem mutagenních změn neschopná nějaké významnější funkce kromě kopírování nebo transpozice sebe sama na další místo v lidském genomu. Nicméně vědci už v nedávné době potvrdili přímou souvislost mezi novými inzercemi TE a spouštěním některých onemocnění u lidí (Solyom, Kazazian, 2012).

Více než 30 % lidského genomu je přímo nebo nepřímo odvozeno z transpozičních změn mobilních elementů skupiny L1. V lidském genomu se počet jejich kopií může pohybovat až okolo 500 000, i když jsou z velké části neaktivní díky různým mutacím. Odhaduje se, že jedna podskupina s 80 - 100 elementy je aktivní u každého jedince (Hancks and Kazazian, 2012).

Největší zastoupení v lidském genomu mají elementy L1 a Alu elementy, proto se věnuji v této části své práce hlavně jim. Ačkoli většina transpozonů byla znehodnocena mutací, je tu důkaz, že elementy L1 nadále přispívají k diverzifikaci lidského genomu (Beck et al., 2011). Naproti tomu Alu elementy zasahují větší expresi genů než samotné L1 transpozony. L1 a Alu elementy mohou kromě narušení exonů působit i na nekódující oblasti genomu a upravit tak jeho regulaci (Prak and Kazazian, 2002).

Důkazem toho, že L1 jsou v lidském genomu stále aktivní, může být příklad z roku 1998. U mužů trpících hemofilií se prokázalo, že vložení nezávislého mutagenního L1 do exonu 14 faktoru VIII bylo zodpovědné za onemocnění u dvou jedinců. L1-zprostředkované retrotranspoziční události představují přibližně 1 z každých 1000 spontánních inzercí onemocnění produkujících u člověka (Beck et al., 2011).

Větší zásluhu na rozšíření transpozonů po genomu má však jiný mechanismus, který vychází z prastarého duplikačního mechanismu virů. Jedná se o duplikaci určité sekvence a následné vložení na nové místo v genomu. Tento rozšiřující mechanismus je typický pro skupinu retrotranspozonů. Potřebují však k tomu prostředníka, což je v tomto případě RNA a její potřebné produkty.

Původní element zůstává na místě a jeho nové kopie se vkládají na nová místa v genomu, je to vlastně jeho reverzní transkript (přepis). Tento mechanismus je hlavní příčinou zvětšování lidského genomu (Bowen and Jordan, 2002).

Změny vyvolané inzercí

Inzerce neboli vkládání kopií L1 Alu elementů na různá místa v genomu může způsobit někdy i vypuštění (vymizení) určité sekvence, která už v genomu dříve byla. Poprvé byl tento jev pozorován v kultivovaných buňkách v laboratorním prostředí. Teprve později bylo zjištěno, že se vyskytují i přirozeně, a to jak v lidských, tak i šimpanzích genomech. Tyto přirozené inzerce se vyskytovaly však v mnohem menším množství a také nebyly tak dlouhé. Jedna taková událost mohla vést i k vymizení funkčního genu během evoluce (Cordaux, Batzer 2009).

Vědci zaznamenali, že více než 90 % L1 a Alu inzercí, které měly za následek vymazání jedné sousední sekvence genomu, způsobilo vymizení jednoho genu pro čichový receptor a to jak z genu u člověka, tak u šimpanze (Sen et al. 2007). V průběhu evoluce primátů tak mohlo dojít až k celkové ztrátě více než 30 Mb genomových sekvencí (Cordaux 2008).

Vzhledem k tomu, že přibližně 5 % lidského genomu bylo zdvojeno asi před 40 miliony lety, rekombinace mezi Alu prvky může představovat důležitý mechanismus pro původ a expanzi lidských segmentových duplikací (Cordaux, Batzer 2009).

Změny vyvolané rekombinací

Kromě inzercí mají TE na svědomí i jiné přestavby lidského genomu, a to pomocí rekombinací. Rekombinace je v podstatě přenesení (výměna) genetické informace mezi dvěma homologickými alelami. Děje se tak v důsledku volné kombinovatelnosti alel nebo tak zvaného „crossing over“.

L1 a Alu elementy mohou také ovlivňovat homologenní rekombinaci genů. A právě mezi Alu elementy se tyto homologenní rekombinace vyskytují ve velké míře (Prak and Kazazian, 2002).

Vzhledem k tomu, že přibližně 5 % lidského genomu bylo zdvojeno asi před 40 miliony lety, rekombinace mezi Alu prvky může představovat důležitý mechanismus pro původ a expanzi lidských segmentových duplikací (Cordaux and Batzer, 2009).

Jiný druh rekombinace, také spojovaný s TE, můžeme označit jako nehomologní. To znamená spojení dvou nepříbuzných částí DNA. Nejnázornějším příkladem může být tak zvaná V(D)J rekombinace (cílené přeskupení genových sekvencí pro gen imunoglobulinu, které je způsobeno genovými produkty pro rekombinační aktivitu v genu. Jinými slovy spojuje různé segmenty DNA, které kódují široké spektrum imunoglobulinů. (Prak and Kazazian, 2002).

Během samotné diferenciacíe lymfocytů pak dochází k V(D)J rekombinaci, tvoří se velké množství konkrétních genů, což pak umožňuje organismu specifickou imunitní odpověď. Katalyzátory této reakce jsou enzymy RAG 1 RAG 2, které po spojení vytvoří enzym, který je příbuzný s transpozázou, enzymem důležitým pro přemísťování DNA transpozonů (Brookfeild, 2005).

Obranné mechanismy

Každému, komu je omezen vlastní vnitřní či vnější prostor, se vždy nějakým způsobem brání. Pokud můžeme chování TE v lidském genomu připodobnit napadení parazitem, pak je logické, že si genom během evoluce našel různé cesty, aby si zachoval vlastní životaschopnost. A stejně tak i samotný TE se musel daným opatřením přizpůsobit. Mohlo tak dojít až k vzájemnému soužití obou entit, jako to vidíme dnes.

Jak již bylo výš uvedeno, je bezesporu, že mobilní elementy určitým způsobem ovlivňují hostitelský, potažmo lidský genom. Ať už je to kladně či záporně. A jestli můžeme způsob jednání mobilních elementů připodobnit k virovému napadení hostitele, pak je také adekvátní obranná reakce hostitele. Během celého vývoje a posléze vlastního soužití TE a lidský genom se vyvinul několik různých obranných mechanismů.

Na poli transpozonů je jedním z nejnápadnějších obranných mechanismů použití RNA interference (RNAi). Spočívá v umlčení genové exprese za pomoci dsRNA od toho stejného genu. Je schopná umlčet i transpozonovou aktivitu mRNA (Brookfield, 2005). Jedním z dalších velmi hojně hostiteli využívaných opatření je metylace DNA, tato reakce upravuje promotor transpozonu (Prak and Kazazian, 2002). Jako další způsob omezování působení TE v genomu můžeme uvést ještě ektopickou rekombinaci.

RNA interference

RNA interference (RNAi) je obranný mechanismus hostitele, kdy jsou za pomoci specifických molekul RNA během transkripce nebo těsně po ní umlčovány napadené geny. Děje se tak většinou kvůli zničení určité mRNA. Interferující RNA je dvouřetězcová (dsRNA) a obsahuje sekvence

transpozónů. Vznik takovýchto dvouřetězcových RNA může být zapříčiněn například chybným přepsáním transpozónu v důsledku transkripce přilehlého genu nebo se celý transpozón přepíše v obou směrech a tyto transkripty se pak spojí. Tato interferující RNA je endonukleázou (zvanou Dicer) rozstříhána na malé fragmenty, které jsou dlouhé 21-24 bází a právě tyto malé úseky RNA jsou označovány jako interferující RNA (siRNA), jež umlčují homologické transpozony.

Metylace DNA

Jedním z dalších a velmi důležitých mechanismů, jak omezit působení TE, je metylace cytosinů, které jsou umístěny na začátku čtecího rámce (promotor) transpozónů. Tento mechanismus vede k omezení pohybu a následně úplnému znehodnocení TE kvůli záměně metylcytosinu za thymin. Metylace ale může svým působením ovlivnit i geny, které sousedí s právě inhibovaným transpozónem, a tím může dojít i k degradaci genů, které jsou pro hostitele důležité.

Ektopická rekombinace

Ektopická rekombinace (NAHR, Non Allelic Homologous Recombination) je nealelní¹² homologická rekombinace, která probíhá mezi Alu elementy. Jedná se o rozptýlené repetice, které se mohou nacházet na různých místech genomu. Po spojení těchto dvou elementů může dojít k odstranění mezilehlé oblasti. Je to jeden z mála procesů, kdy v rámci TE dochází ke zmenšování genomu oproti stálému kopírování jednotlivých segmentů TE.

Jak ale bylo prokázáno, v mnoha situacích vztah mezi transpozónem a lidským genomem nemusí být vždy jen negativní. Několik hostitelských genů má vysoký stupeň homologie s jedním nebo více transpozony. Například enzym telomeráza, který je zodpovědný za udržování konců eukaryotických chromozomů (telomery), je podobný reverzní transkriptáze (RT), enzymu, který je také v non-LTR retrotranspozónu (Prak and Kazazian, 2002).

¹² Alela je jedna konkrétní forma genu. Nealelní znamená, že neprobíhá mezi alelami stejného genu, ale mezi alelami různých genů, které mají podobně řazené sekvence.

4 Transpozony a evoluce

Hlavním předpokladem vývoje organismů kupředu je variabilita (různorodost). A právě TE, které svým působením přetvářejí lidský genom, můžeme označit za katalyzátory evoluce. Pokud tato práce pojednává o mobilních elementech v lidském genomu, nelze nepřipomenout jejich úzký vztah k evoluci a vývoji organismů jako takovým.

Pokud budeme předpokládat, že začátek veškerého života, jak ho známe dnes, začal na úrovni RNA a postupem času a zdokonalováním bylo tajemství života upevněno ve stabilnější formě uchování dědičné informace v DNA, musíme samozřejmě podle nejnovějších poznatků evolučních a genomických věd počítat s vlivem mobilních elementů na vývoj genomu. Je sice pravda, že většina těchto transpozonů je už neaktivní, ale přece jen se najdou mezi nimi i funkční elementy.

Základní vlastností mobilních elementů je jejich mobilita. Schopnost volně se pohybovat po genomu dává docela dobré vodítko ke zjištění, jak mohly transpozony ovlivnit evoluci i u člověka. Jejich obrovské rozšíření v lidském genomu k tomu přímo vybízí.

Budeme tedy předpokládat, že transpozony byly původně cizorodá DNA, která napadla hostitelský genom. Dnes nemůžeme přímo říct, jak došlo k samotnému začlenění DNA do hostitelské, ale Kejnovský a Hobza uvádějí ve své práci tři možné fáze soužití. Jedná se o pravidlo 3K: konflikt, kompromis, kooperace. Celý tento proces můžeme připodobnit napadení parazita hostitele. Nejdřív dojde k napadení a velmi rychlé obranné reakci, která posléze přejde do fáze přijetí nebo odmítnutí, a nakonec se obě DNA naučí spolupracovat nebo v důsledku nemožného soužití zanikají. Pokud hostitel TE přijme, pak může dojít i ke spolupráci a transpozon může způsobovat různé změny v genomu hostitele buď negativní, nebo může být svému hostiteli prospěšný.

A právě i v lidských buňkách vědci objevili několik desítek genů, u kterých předpokládají původ z retrotranspozonů. Jako příklad přijetí TE do hostitelského genomu může sloužit telomeráza reverzní transkriptáza (Kejnovský a Hobza, 2009).

Základním předpokladem pro budoucí prospěšné soužití je přijetí cizí DNA hostitelem. Takový postup nazýváme domestikace transpozonu. Takový transpozon pak může mít vliv na genovou expresi hostitele, evoluční změny v sekvencích, které kódují proteiny. Jelikož základní vlastností transpozonu je jeho množení (kopírování), nachází se v genomu ve velkém počtu kopií a může tak sloužit jako stavební materiál pro tvorbu nových genů a v konečném důsledku může vést až ke

vzniku nových druhů. Některé studie ukázaly, že oddělování jednotlivých vývojových větví savců během evoluce koreluje s jednotlivými explozivními amplifikacemi TE (Kejnovský a Hobza, 2009).

Jako příklad můžeme uvést, že až 25 % promotorů v lidské DNA obsahuje sekvence, které byly původně odvozeny z mobilních DNA elementů (Brookfield, 2005). Jiný příklad, který ukazuje na domestikaci TE v lidském genomu, je přestavba DNA při již výše zmíněné V(D)J rekombinaci.

Mnoho skupin mobilních sekvencí je popsáno jako "zaniklé", což znamená, že již nejsou mobilní, i když jejich kopie jsou i nadále přítomné ve velkém množství v genomu.

Nicméně díky důkladnému vyšetření genomu a s vědomím toho, že evoluce probíhala konstantní rychlostí, můžeme z části rekonstruovat načasování transpozonových událostí. Většina sekvencí se vyvíjela pod neutrálním selekčním tlakem, což platí pro mobilní sekvence DNA, protože v genomu přetrvávají někdy až miliony let a jsou mutacemi měněny a degradovány jen velmi pozvolna (Brookfield, 2005).

Jako velmi zajímavou bych tady chtěla uvést evoluci člověka a jeho nejbližšího příbuzného šimpanze učenlivého. Genetická podobnost mezi oběma druhy je velmi vysoká. Člověk má 46 chromozómů, šimpanz 48, v obou genomech pak může být až několik milionů míst, kde mohlo dojít ke změnám ve funkční sekvenci DNA. Všechny tyto změny proto mají za následek rozdílnou funkčnost bílkovin u lidí a u šimpanzů. Evoluce lidského genomu prošla za posledních několik set tisíc let velmi rychlým vývojem. Jednotlivé změny na DNA hostitele mu mohou přinést určité výhody nebo naopak omezení, která ho v konečném důsledku předurčí k tomu být v dalším vývoji úspěšný či nikoli.

Jeden z takových genů, který se změnil a přinesl svému hostiteli výhody, je gen FOXP2. Má se za to, že je to gen řeči. Patří mezi transkripční faktory a může zapříčinit rychlejší vývoj řeči u člověka více než u ostatních lidoopů.

Rozdíl mezi člověkem a šimpanzem, co se týče genových informací, není tedy příliš velký. Hlavní odlišnost můžeme ale spatřit v počtu neaktivních skákajících genů. Rozdíl tedy není v nějakém extra genu, který mohl za schopnost lidské řeči, ale jen množství nahromaděné neaktivní DNA. Šimpanz má této „odpadní DNA“ daleko více než člověk. Vědci se proto domnívají, že vývojová větev člověka si ve svém genomu dokázala „uklidit“, kdežto šimpanz nikoli. (<http://www.gate2biotech.cz/precteny-bratr-simpanz/>).

4.1 Vliv transpozónů na evoluci lidského genomu

Asi největší vliv na evoluční vývoj lidského genomu mají non LTR-retrotranspozony (L1 Alu elementy a SVA elementy). Může to být způsobeno právě jejich velmi velkým počtem akumulací za desítky milionů let v lidském genomu a nepřetržitým působením uvnitř genomu. A právě tyto elementy se velmi odlišují od ostatních elementů, a to nejen mezi savci, ale napříč celou eukaryotickou linií.

Za největší vliv transpozónů na lidský genom může být považována změna velikosti genomu v důsledku hromadění genomových repetit. Jen samotné L1 Alu elementy ho rozmnožily o 750 mezera Mb. Toto rozšiřování pokračuje samozřejmě i dnes. Za dobu oddělení samostatné vývojové větve člověka od šimpanze (asi šesti milionů let) vývoje už stačil lidský genom nashromáždit přes 20 000 kopií L1, 7000 kopií Alu elementů a 1000 kopií SVA elementů. Neustálé rozšiřování non-LTR transpozónů zapříčinilo významné interindividuální rozdíly mezi obsahy transpozónů. Tyto lidsky specifické mobilní elementy jsou často polymorfní (to znamená, že mohou mít mezi jedinci různé formy). Liší se v místech zvaných ortologové lokusy¹³ a vytváří velmi důležité informace o jednotlivých genetických znacích, které mohou být použity pro mapování lidské evoluční historie, struktury obyvatelstva a demografie (Cordaux, Batzer 2009).

Pro evoluční genetiku je důležité seřadit rozdílné druhy mobilních elementů na základě nukleotidových substitucí, inzercí či delecí do subfamilií pomocí společných prvků, které jsou sdílené všemi členy dané subfamilie. Například více než 200 subfamilií Alu elementů bylo zaznamenáno v lidském genomu, ale v současné době jich existuje jen šest.

Existují různé subfamilie rozdílného stáří, ale nalezené sekvenční mutace, které definují subfamilie, mají tendenci se hromadit hierarchicky. To znamená, že ve chvíli mutace nevznikají dvě nové rodiny, ale nová subfamilie je odvozena od té předešlé. Většina subfamilií tak představuje lineární sekvenční schéma vývoje, ve kterém je jedna subfamilie odvozena postupně od druhé. Například bylo prokázáno, že všechny podskupiny L1 v lidském genomu byly odvozeny postupně z jedné linie v minulosti, přibližně před 40 miliony let. Podobné modely evoluce podčeledi byly pozorovány u Alu a SVA elementů. Tato pozorování lze vysvětlit, pouze pokud se bychom vycházeli z předpokladu, že existovalo jen několik základních prvků (tzv. "zdroj" nebo "master"

¹³ „Homology –homologní geny jsou takové, které se vyvinuly z jednoho společného genu. Tento společný gen se označuje jako ancestrální. Homologní geny pak byly dále rozděleny do dvou podskupin: a) Ortology – ortologní geny vznikly speciací (jedná se o biologický evoluční pochod, při němž se vývojové linie štěpí, čímž dochází ke vzniku nových taxonomických druhů; název je odvozen od latinského species–druh).

b) Paralogy – paralogní geny vznikly duplikací ancestrálního genu. Speciální skupinou paralogů je následující skupina: Ohnologs –jedná se o geny vzniklé duplikací celého genomu“.

prvky), které byly zapojeny do procesu retrotranspozice, a jsou tudíž zodpovědné za tvorbu všech ostatních členů subfamilií (Cordaux and Batzer, 2009).

Inzerce non LTR elementů do lidského genomu má za následek nejen jeho rozšiřování, ale může způsobit i patologické mutace. V některých případech bylo dokonce prokázáno, že způsobují dědičná onemocnění, jako je například hemofilie, cystická fibróza, neurofibromatózy a některé druhy rakoviny. Celkový odhad pak může činit asi 0,3 % všech lidských mutací jsou způsobeny de novo L1, Alu a SVA insercemi (Cordaux and Batzer, 2009).

Jednou z dalších cest, jak mohou TE ovlivnit lidský genom a potažmo pak i další generaci, jsou dědičné choroby. Je známo několik onemocnění, která jsou způsobena expanzí tandemových repetitiv. V tomto případě se jedná o tvorbu tak zvaných mikrosatelitů¹⁴. Mikrosatelity jsou krátké tandemové repetice většinou o velikosti 1-5bp v genomu, kde tvoří dlouhé řetězce. Vykytují se poměrně hojně a mají velkou variabilitu (zdroj aktuální genetika: http://biol.lf1.cuni.cz/ucebnice/repetitivni_dna.htm). Mohou tvořit neobvyklé konformace DNA či struktury typu vlásenek. Non-LTR transpozony mohou vytvářet mikrosatelity na mnoha místech genomu, což je způsobeno tím, že obsahují homopolymerní plochy. Vzhledem k četnosti Alu elementů v lidském genomu se nejvíce mikrosatelitů nachází právě zde. Většina z nich leží mimo oblast genu. Pokud se mikrosatelit však nachází uvnitř genu, může způsobit onemocnění, na příklad Huntingtonovou chorobou (Kejnovský a Hobza, 2009 a Cordaux and Batzer, 2009).

Dalším možným způsobem, jak mohou ovlivnit transpozony náš genom, je genová přeměna, neboli genová konverze. Některé studie ukazují, že Alu prvky procházejí genovou konverzí, což je typ rekombinace, která je definována jako nevzájemné předávání informací mezi homologními sekvencemi. Genová konverze by mohla hrát roli v evoluci Alu prvků inaktivací (vypnutím) aktivních kopií nebo reaktivací („znovuzapnutím“) inaktivovaných kopií. Například se v poslední době prokázalo, že hlavní prvek Alu Yh3a3 byl u lidí inaktivován genovou konverzí, a proto je zabráněno dalšímu šíření této subfamilie. Navíc, protože Alu prvky tvoří více než 10 % lidského genomu, Alu zprostředkované genové konverze by mohly mít významný dopad na celkovou rozmanitost nukleotidů našeho genomu (Graur et al., 2015).

¹⁴ Repetitivní sekvence DNA můžeme rozdělit na tandemové a rozptýlené. Rozptýlené repetice tvoří hlavně retroelementy a tandemové se mohou rozdělit na sekvence různých délek, satelity, minisatelity a mikrosatelity (Kejnovský a Hobza 2009)

U genové retrotranspozice se dlouho mělo za to, že produkuje pouze nefunkční kopie genu (nazývané retropseudogen), protože v důsledku přesmyknutí DNA nedochází k duplikaci ve směru regulační oblasti, nýbrž naopak. Tím pádem musejí duplikované geny svou regulační oblast někde získat náhodně, aby se mohly stát funkčními. Nicméně prohledání celého genomu potvrdilo význam tohoto retrotranspozitivního genu při vzniku nového genu u primátů. To by mohlo znamenat, že za celou dobu evoluce primátů (přibližně 65 milionů let) se každých 5 milionů let objeví nový retrogen (Cordaux, 2009).

Jednou z možností obměny lidského genomu je vznik nových genů. Jednotlivé druhy se od sebe mimo jiné liší i počtem genů. Různé změny v počtech genů mohou být tedy považovány za jednu z hybných sil evoluce. Změny počtu genů se dějí neustále a nepřetržitě.

Retrotranspozony měly hlavní vliv na velikost a výstavbu genomů všech primátů. Každý jeden genom byl utvářen svým jedinečným způsobem. A právě díky postupnému vkládání během evoluce do jednotlivých genomů primátů, kde si vybudovaly i osobité vlastnosti, mohou dnes tyto TE sloužit jako dobrý základ pro populační genetiku či rozlišování fylogenetických vztahů (Konkel et al., 2010).

Exonizace je proces, který má vliv na genovou expresi. Přepsané vlákno DNA do mRNA, které je prostředníkem mezi transkripcí a translací, obsahuje ve svém řetězci exony a introny. Introny jsou oblasti, které nekódují žádný protein a jsou při vycestování z jádra buňky vystřiženy z důvodů zkrácení mobilního řetězce. Zbylé exony (části řetězce, které nesou kódující tripletty pro tvorby jednotlivých proteinů), jsou slepeny k sobě, aby mohly vycestovat ven z jádra buňky.

Tento komplikovaný zásah může proběhnout pouze tehdy, pokud je transpozon na obou koncích opatřen alternativními sestřihovými místy. Jestliže jsou na obou koncích přítomny taková místa, pak je tento transpozon včleněn do kódující sekvence, čímž může být pozměněna exprese genu. V lidském genomu je pak většina nových exonů přetvořena z Alu elementů (Zhang, 2006).

Alternativní sestřih se týká asi 40-60 % lidského genomu. Retrotranspozonové sekvence jsou někdy včleněny do hostitelského genomu jako exony. Tento proces se nazývá exonizace. Nedávno provedené proteinové analýzy ukazují, že se jedná asi o 0,1 % sekvencí, které kódují proteiny a obsahují transpozomální elementy. Odhaduje se, že přibližně 5 % z alternativně sestřižených exonů je odvozeno z Alu elementů (Cordaux and Batzer, 2009).

5 Transpozony a viry

V této poslední kapitole bych chtěla krátce podtrhnout společné rysy TE a virů. Jejich podobnost je i na první pohled zřejmá.

Viry jsou molekulární parazité, kteří mohou existovat a rozmnožovat se pouze díky hostiteli, jež jim nabídne všechny potřebné látky. Sobecké chování mobilních elementů (odtud také *selfish DNA*) v genomu člověka ve velké míře připomínají chování virů při obsazování svého hostitele. Virové organismy mohou používat odlišný genetický kód RNA nebo DNA, u některých se stane membrána hostitelské buňky součástí vlastního virového organismu. Některé viry pak používají reverzní transkripci, která je zdokumentovaná i u TE v lidském těle (Kejnovský a Hobza, 2009).

Viry a/nebo jen sobecké elementy jako transpozony a plazmidy parazitují nebo vstupují do symbiotických vztahů se všemi buněčnými životními formami. Svět virů má enormní rozdílnost v genomické struktuře a velikosti (virální genomy se skládají z jednořetězcové RNA nebo DNA v rozmezí od méně než 1kb až ke stovkám MB) (Krupovic and Koonin 2015).

Když viry napadnou hostitele, snaží se ho co nejdéle udržet na živu právě kvůli tomu, aby se samy mohly rozmnožovat a šířit se dál. U DNA mobilních elementů je to podobné jen do té míry, než namnožení TE dosáhne určité hranice. Zahubení hostitele může v podstatě způsobit i jen samotná transpozice TE do nebo v genomu, které může způsobit mutace a dvouřetězcové zlomy v DNA, což má samozřejmě za následek snížení celkové životaschopnosti u hostitele (Odtud také anglický název *selfish* = sobecký). Poškození DNA může být také způsobeno přítomností TE v chromozomu, což může vést k dalším mutacím (Brookfield, 2005).

Viry a ostatní genetické elementy nesdílí jediného společného předka, jinými slovy neexistuje žádný gen, který by byl zachován ve většině těchto genomů. Nicméně viry a jiné sobecké TE jsou formovány komplexní sítí evolučních vztahů, ve kterých jsou genomy spjaté díky různým skupinám sdílených genů. Tato evoluční síť se zřejmě objevila v důsledku k rozsáhlé genetické výměny. Tato výměna se děje stejně často mezi vzdálenými cizími mobilními elementy, stejně jako mezi paralelními přírůstky homogenních genů u hostitele (Krupovic and Koonin 2015).

Mechanismus reverzní transkripce je způsob kopírování vlastní genetické informace dnes známý jen u retrovirů (HIV). Jedná se vlastně o jakési porušení biologického dogmatu. Centrální dogma molekulární biologie tvrdí, že přepis informace na proteiny v genomu je možný pouze jedním směrem, a to z DNA- RNA-protein (Crick, 1970).

Retrotranspozony a retroviry však toto dogma svým replikačním mechanismem „porušují“. Jde o to, že mají svou genetickou informaci zakódovanou a uchovanou v RNA. V okamžiku, kdy proniknou do hostitele a chtějí se pomnožit, musí využít hostitelské proteiny, protože samy své vlastní nemají. Pomocí nich se pak replikují, a navíc svou novou kopií jsou schopny vložit do hostitelovy DNA. Elementy, které se mohou přemísťovat po genomu, můžeme označit jako selfish. Ale není to to samé, co sobecké geny, protože ty jsou funkční kvůli svému vlivu na fenotyp. Selfish DNA jsou sekvence DNA, které se hromadí v genomu díky neselektivním prostředkům a které mají negativní účinek na fitness hostitele (Brookfield, 2005).

Některé složky DNA, na příklad tandemové repetice, jsou svým chováním téměř k nerozeznání od parazitických virů. Replikují se při přesouvání na jiné místo genomu. Počet jejich kopií roste rychleji než počet spontánních delecí. Vše ostatní je stejné, pouze se liší vyšším počtem v hostiteli. Jsou omezovány přírodním výběrem proti svému hostiteli (Brookfield, 2005).

Více než 80 % lidské DNA je tvořeno transpozony. V kolonizaci lidského genomu byly tyto elementy velmi úspěšné. Může to vypadat, že transpozony jsou pouze sobecké elementy stvořené pouze pro množení sama sebe a rychlému obsazení hostitele, chování velmi podobné virovým parazitům. Jako správný parazit, který napadne svého hostitele, tak i transpozony se včlení do života svého hostitele a pomalu ho začnou ovlivňovat. Ale jen do té míry, aby byl hostitel schopen přežít a parazit se mohl v neomezené míře množit a předávat tak dál svou genetickou informaci. Aby ale nepoškodil svého hostitele příliš, musí si transpozon vybírat taková místa v lidském těle, která tuto situaci umožní. Jedním takovým místem mohou být třeba kmenové buňky v zárodečném vývoji, kde poškození buněk může mít různé důvody. Nebo příklad nádorového bujení, kdy postižené buňky stejně neplní již svou určenou funkci, nebo jsou jejich kopie vkládány do nedůležitých částí genomu (introny) (Prak and Kazazian, 2002).

Celkově je eukaryota hostitelem pro osmnáct známých rodin dsDNA virů, které ovlivňují široké spektrum mnoha buněčných organismů a mnoho nezařazených virů překlenující skoro všechny virální velikosti genomu, od přibližně 4kb až k skoro 2,5Mb (Krupovic and Koonin 2015).

Eukaryota jsou bohatými hostiteli různých RNA virů a retroelementů i retrovirů patří sem ssDNA i dsDNA viry).

Některé důkazy nás přesvědčují o detailním prozkoumání evolučních propojení mezi různými viry a mobilními elementy. Svět virů a sobeckých elementů je však enormně rozdílný, i když by se bral v úvahu pouze jeden vir s přesným typem nukleové kyseliny (např. dsDNA), která ovlivňuje hostitele z pouze v jedné oblasti buněčného života (např. eukaryota). Nedávné objevy gigantických virů

(jejich fyzické rozměry byly větší než některé parazitické jednobuněčné eukaryota) ukazují, že ještě stále neznáme všechny informace, které se týkají všech virových a TE odlišností. Možná ale již brzy vědci vyloučí některý z obecných principů tohoto vývoje. Jeden z dosavadních pomocných klíčů je jednota evolučních procesů a bezkapsidálních transpozonů.

Pro všechny dsDNA viry v eukaryotech můžeme nelézt časté předky mezi viry a bakteriemi (a v některých případech i plasmidy). A lze také pozorovat, že jsou kompatibilní s (proto)mitochondriálním endosymbiontem (a možná jinými bakteriálními symbionty) ve vývoji eukaryot (Krupovic and Koonin 2015).

Můžeme říci, že TE se chovají ve většině případů jako parazité, kteří napadají svého hostitele, a je jen na obranných mechanismech daného organismu, zda s ním bude bojovat a zahyne nebo najdou společnou cestu evolucí a dají vznik něčemu novému.

6 Závěr

Zkoumání a pochopení lidského genomu prodělalo za poslední půlstoletí neuvěřitelný pokrok. Vědci objevili, že lidské geny nejsou jen stabilní komplex několika deoxyribonukleových kyselin a dusíkatých bází. Lidský genom je dynamická struktura. Je složen z jednotlivých genů, které jsou neustále vystaveny eliminačním a selekčním tlakům, zvenčí i zevnitř. Zachování genů v genomu záleží na míře přízpůsobení a schopnosti využít selekční změny.

Chemické složení a struktura lidské genetické informace zůstává miliony let neměnná (DNA, RNA). Co se však mění, jsou vědomosti o funkčnosti genomu či o počtu funkčních genů. Současné studie konstatovaly, že velké množství lidského genomu tvoří nekódující sekvence tandemových a rozptýlených repetic. Tyto repetice pak obsahují jednotlivé druhy mobilních elementů. Zbylá část kódující DNA se ještě dále může dělit na genové a negenové oblasti, přičemž negenové oblasti jsou daleko rozsáhlejší. Zbylá část kódujících genů pro tvorbu funkčních bílkovin je 1,2 % z celého genomu. Přesto je celkově transkribováno až 80 % lidského genomu.

Mobilní elementy jsou prvky, které jsou schopné pohybovat se po genomu za pomoci vlastních kopírovacích mechanismů a vytvářet tak nové kopie, které se plynule začleňují do genetického obsahu člověka. Transpozony mohou za dynamičnost celého genomu. Mají různé vlastnosti a u rozličných živočichů mají i různou funkčnost a význam. Lidský genom obsahuje několik typů transpozonů, které svou přítomností zákonitě ovlivňují celý lidský genom.

Lidský organismus se proti negativnímu působení transpozonů brání. Během evoluce si vyvinul několik obranných mechanismů, které jsou tomu schopny zamezit. Není však pravidlo, že působení mobilních elementů na genom musí být vždy jen negativní. Ze vzájemné kooperace může vzniknout pevný vztah prospěšný alespoň pro jednoho z účastníků.

Ve své práci jsem se pokusila shrnout dosavadní poznatky o transpozonech a jejich aktivitě a mechanismech působení v lidském genomu. Pokusila jsem se vylíčit jejich vliv na evoluční průběh a popsat mechanismy obrany napadeného genomu. V poslední kapitole se věnuji paralele mezi transpozony a viry. Jejich vzájemná podobnost se prolíná celým tématem, i když vědecké studie potvrdily, že nemají společného předka.

Mobilní elementy jsou přítomny v lidských genomech už miliony let, a tak není divu, že působení transpozonů uvnitř genomu má vliv na jeho expresi a tím pádem v dlouhodobém měřítku i na evoluci. Jedním z pozitivních vlivů transpozonů na genom je expirace nových genů, které s sebou mohou přinášet i vznik nového druhu.

Ve své práci jsem se pokusila shrnout a uceleně podat dosavadní poznatky, co se týče mobilních elementů v lidském genomu. Práce popisuje lidský genom jako dynamický systém a zdůrazňuje, že právě mobilní elementy, které se měly do nedávné doby za zbytečnou součást lidské DNA, jsou toho příčinou.

7 Seznam použitých informačních zdrojů

Beck, C. R., Garcia-Perez, J. L., Badge, R. M., Moran, J. V. 2011. LINE-1 Elements in Structural Variation and Disease. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*. [online] 12:187–215. doi: 10.1146/annurev-genom-082509-141802. Dostupné z:

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4124830/>

Bowen N.J., Jordan I.K. 2002. Transposable Elements and the Evolution of Eukaryotic Complexity. *Curr. Issues Mol. Biol.* [online] 4: 65-76. Dostupné z:

<http://www.horizonpress.com/cimb/v/v4/65.pdf>.

Brookfield John F.Y. 2005. The ecology of the genome - mobile DNA elements and their hosts. *Nature Reviews Genetics* [online] 6, 128-136 (February 2005) | doi:10.1038/nrg1524. Dostupné z:

<http://www.nature.com/nrg/journal/v6/n2/full/nrg1524.html>

Brunet Tyler D.P. and Doolittle W. Ford. 2015. Multilevel Selection Theory and the Evolutionary Functions of Transposable Elements. *Genome Biol Evol published* [online] 7:2445-2457. Dostupné z: <https://gbe.oxfordjournals.org/content/7/8/2445.full>

Burns K.H., Boeke JefD. 2012. Human Transposon Tectonics. *Cell*. [online] Volume 149, Issue 4:740–752. Dostupné z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S009286741200517X>

Crick F., Central Dogma of Molecular Biology. 1970. *Nature*. [online] vol. 227:561-563.

Dostupné z: <http://www.nature.com/nature/focus/crick/pdf/crick227.pdf>

Cordaux R., Batzer M. A. 2009. The impact of retrotransposons on human genome evolution *Nature Reviews Genetics* [online] 10: 691-703. Dostupné z:

<http://www.nature.com/nrg/journal/v10/n10/full/nrg2640.html>

Cordaux, R.(2008) The human genome in the LINE of fire. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* [online] vol. 105 no. 49, 19033–19034, doi: 10.1073/pnas.0810202105. Dostupné z: <http://www.pnas.org/content/105/49/19033.short>

Graur D., Zheng Y. and Azevedo Ricardo B.R. 2015. An Evolutionary Classification of Genomic Function. *Genome Biol Evol.* [online] Vol.7:642-645 first published online January 28, 2015 doi:10.1093/gbe/evv021. Dostupné z <http://gbe.oxfordjournals.org/content/7/3/642.full>

Paul M. Harrison, P., Zheng, D., Zhang,, Z., Carriero, N. and Gerstein, M. 2005. Transcribed processed pseudogenes in the human genome: an intermediate form of expressed retrosequence lacking protein-coding ability *Nucl. Acids Res.* [online](2005) 33 (8): 2374-2383 doi:10.1093/nar/gki53. Dostupné z: <http://nar.oxfordjournals.org/content/33/8/2374.short>

Little Peter F.R., 2005. Structure and function of the human genome. *Genome Research. Cold Spring Harbor Laboratory Press* [online] 15:1759-1766 doi: 10.1101/gr.4560905. Dostupné z: <http://genome.cshlp.org/content/15/12/1759.full.pdf+html>

Kejnovský, E., Hobza, R. Evoluční genomika (skripta). 2009. [online]
Dostupné z: http://www.evolucnigenomika.cz/Skripta/Evolucni_genomika_skripta2008.pdf

Krupovic M and Koonin EV 2015 Polintons: a hotbed of eukaryotic virus, transposon and plasmid evolution. *US National Library of Medicine National Institutes of Health. Clear input*2015 Feb;13(2):105-15. doi: 10.1038/nrmicro3389. Epub 2014 Dec 22. Dostupné z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/25534808>

Luning Prak E.T., Kazazian H.H. 2002. Mobile elements and the human genome. *Nature Reviews Genetics 1*, [online] 134-144 (November 2000) | doi:10.1038/35038572. Dostupná z: http://www.nature.com/nrg/journal/v1/n2/full/nrg1100_134a.html

Rosypal S. a kol. 2003. Nový přehled biologie. Scientia spol s.r.o., pedagogické nakladatelství. Praha.

Sen, S. K., Huang, C. T., Han, K. & Batzer, M. A. 2007 Endonuclease-independent insertion provides an alternative pathway for L1 retrotransposition in the human genome. 2007. *Nucl. Acids Res.* [online] 35 (11): 3741-3751. doi: 10.1093/nar/gkm317 First published online: May 21, 2007

Dostupné z : <http://nar.oxfordjournals.org/content/35/11/3741.short>

Šeda, Liška, F., Šedová, L., Aktuální genetika – multimediální učebnice lékařské biologie, genetiky a genomiky, *Ústav biologie a lékařské genetiky 1. LF UK a VFN*, [online] Praha 2005 – 2006.

Dostupné z:

http://biol.lf1.cuni.cz/ucebnice/repetitivni_dna.htm

Solyom S, Kazazian HH Jr. 2012. Mobile elements in the human genome: implications for disease. *Genome Medicine.* online 4:12. Dostupné z: <http://www.biomedcentral.com/content/pdf/gm311.pdf>

Tyler A. Elliott, T. Ryan Gregory 2015. What's in a genome? The C-value enigma and the evolution of eukaryotic genome content. *Phil. Trans. Royal Society.* [online] B 370: 20140331. Published 31 August 2015. DOI: 10.1098/rstb.2014.0331. Dostupné z:

<http://rstb.royalsocietypublishing.org/content/370/1678/20140331.full>

Elektronické zdroje:

1. Ensembl. Ensembl release 84 - March 2016 © [online]. 2015.[cit.2016-02-24]. Dostupné z: http://www.ensembl.org/Homo_sapiens/Info/Annotation
2. GenBank. GenBank: J01415.2.[online] [cit.2016-03-25]. Dostupné z: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/assembly/GCF_000001405.31/?report=full
3. HUGO. Human Genome Organisation.© 2016 [online] [cit.2015-03-19]. Dostupné z:

<http://www.hugo-international.org/>

4. Genome. National Human Genome Research Institute, *October 30, 2010*. [online] [cit.2015-06-12]. Dostupné z: <http://www.genome.gov/11006943>
5. The ENCODE Project Consortium. An integrated encyclopedia of DNA elements in the human genome. *Nature* 489,57–74(06 September 2012)doi:10.1038/nature11247©2012 [online][cit.2016-03-29].Dostupnéz: <http://www.nature.com/nature/journal/v489/n7414/pdf/nature11247.pdf>

Univerzita Karlova v Praze, Pedagogická fakulta

M. Rettigové 4, 116 39 Praha 1

Evidenční list žadatelů o nahlédnutí do listinné podoby práce

Jsem si vědom/a, že závěrečná práce je autorským dílem a že informace získané nahlédnutím do zveřejněné závěrečné práce nemohou být použity k výdělečným účelům, ani nemohou být vydávány za studijní, vědeckou nebo jinou tvůrčí činnost jiné osoby než autora.

Byl/a jsem seznámen/a se skutečností, že si mohu pořizovat výpisy, opisy nebo rozmnoženiny závěrečné práce, jsem však povinen/povinna s nimi nakládat jako s autorským dílem a zachovávat pravidla uvedená v předchozím odstavci tohoto prohlášení.

Poř. č.	Datum	Jméno a příjmení	Adresa trvalého bydliště	Podpis
1.				
2.				
3.				
4.				
5.				
6.				
7.				
8.				
9.				
10.				