

---

# Mobilní elementy a retropozice v lidském genomu

---

## Mobilní elementy a retropozice v lidském genomu

Dokončení kompletní sekvence lidské genetické informace potvrdilo dřívější pozorování, že genom člověka nese, podobně jako genomy většiny dalších organismů, značnou zátěž různých parazitických elementů. Zatímco exony genů kódující proteiny tvoří pouze asi 1.5% zlomek genomové DNA, pravděpodobně více než 50 % genomu našeho druhu tvoří různé druhy repetitivní DNA. Ta odpovídá zejména mobilním elementům a dalším sekvencím vloženým do genomu většinou mechanismem retropozice, při které se úsek DNA množí a reintegruje prostřednictvím molekuly RNA. Moje přednáška je zaměřena na vliv retropozice a retropozicí vzniklých sekvencí na variabilitu a evoluci lidského genomu. Během své práce na různých projektech v molekulární genetice člověka jsem se opakovaně setkával s rozličnými a často velice fascinujícími aspekty retropozice. Mnohotvárnost důsledků retropozice dokumentuji na příkladu tří genů z lidské chromozomální oblasti Xq28. Mobilní povaha sekvencí vzniklých retropozicí však často převádí naši pozornost i na jiné chromozomy, stejně tak jako snaha o pochopení evoluční historie jednotlivých událostí často vede od studia genomu člověka ke genomům dalších modelových organismů. Moje vlastní zkušenosti jsou pak doplněny o nástin dnes se rodícího obecného pohledu na retropozici.

Zdá se, že klíčovou roli v tvarování lidského genomu měly autonomní retropozony označované jako non-LTR elementy. Typickým představitelem této skupiny retroelementů je lidská sekvence L1, která se v genomu nachází v asi 600 tisících kopiích, a která tvoří téměř 20% genomu. Tato sekvence je zvláště důležitá také proto, že poskytuje enzymatický aparát pro množení neautonomních retropozonů, jako jsou sekvence Alu (přes 1 milion kopií v genomu), a retroseudogenů (asi 25 tisíc kopií). Mezi retroelementy, které nezmiňuji, patří ještě elementy se sekvencemi LTR, a mobilitu vykazují i DNA transpozony, které ale nepoužívají retropozici.

Počátek mé profesionální dráhy v roce 1984 je spojen s molekulární diagnostikou hemofilie A. Vzhledem k tehdejšímu stavu znalostí a technickým možnostem jsme prováděli pouze nepřímou diagnostiku založenou na genetické vazbě. Gen pro faktor VIII je ale velmi dobrým příkladem negativního působení retropozice na lidský genom. U pacientů s hemofilií A byla popsána jak inserční mutagenese elementy L1 či elementy Alu přerušujícími kódující oblast genu, tak tvorba delecí způsobená homologní rekombinací mezi nealelními kopiemi stabilně rezidentních elementů Alu. Nejzávažnější a nejčastější mutací jsou velké inverze podmíněné několika kopiemi malého genu s neznámou funkcí, které se pravděpodobně zmnožují retropozicí, a z nichž jedna sídlí v nejdelším intronu genu pro faktor VIII.

Přínejmenším zdánlivě neutrální chování retropozonů demonstrují na mnou izolovaných genech GDI. Lidský gen GDI1 leží v oblasti Xq28 a jeho paralog GDI2 v oblasti 10p15. Gen GDI2 byl navíc zdrojovým genem pro vytvoření retroseudogenu vloženého do chromozomální oblasti 7p11. Přestože je genová struktura genů GDI1 a GDI2 velmi podobná, gen GDI2 zaujímá asi 8x více genomové DNA. Tato expanze je způsobena obrovským množstvím sekvencí včleněných retropozicí do intronů tohoto genu. Geny GDI1 a GDI2 ryby fugu jsou ve shodě s očekáváním velmi kompaktní a neobsahují repetitivní sekvence. Konečně jediný gen GDI z genomu kopinatce, který je zřejmě podobný ancestrálnímu genu pro geny GDI1 a GDI2 všech obratlovců, má střední velikost, a jediný výrazně delší intron opět nese blíže necharakterizovanou inserci. Funkce všech studovaných genů GDI zjevně nejsou velkým či naopak malým obsahem repetitivních sekvencí a expanzí nebo kontrakcí transkribovaného úseku nijak dotčeny. Na jednom intronu genu GDI2 s velmi vysokým obsahem retroelementů lze navíc demonstrovat některé jevy jako jsou přednostní integrace v protisměrné orientaci nebo zahánzdění jednotlivých elementů, které minimalizují možné negativní vlivy retropozice.

Velice zajímavý výsledek jsem pozoroval u interakce retropozicičního aparátu s genem XAP5, který sousedí s genem GDI1 v oblasti Xq28. Ačkoliv retropozice mRNA běžného genu kódujícího protein vede téměř vždy k vytvoření nefunkčního retroseudogenu, v případě genu XAP5 došlo ke vzniku retro genu, který má zachovaný otevřený čtecí rámeček. Tento gen nazvaný X5L leží na chromozómu 6. Stejný gen jsem našel i v genomu myši. Gen X5L je u obou druhů exprimován v řadě tkání, zejména ale ve varlatech. Podrobné studium exprese genu X5L ve varlatech ukázalo, že nejsilnější exprese je v buňkách právě procházejících meiozou, a to může souviset s kompenzací za příbuzný X-vázaný gen XAP5 meioticky inaktivovaný při spermatogenezi. Fylogenetická analýza prokázala, že geny ortologní mezi druhy (např. X5L člověka a myši) si jsou bližší než paralogní geny v rámci jednotlivých druhů (např. lidské XAP5 a X5L), a vznik genu X5L tedy musel předcházet oddělení linií vedoucích k primátům a hlodavcům před 80 až 100 miliony let. Archaický původ tohoto genu potvrzuje i jeho konzervovaná syntenie. Evoluční konzervace sekvence genu X5L pak svědčí pro důležitost jeho funkce, i když tato zůstává dodnes neznámá. Gen X5L tak ukazuje, jak může retropozice s využitím enzymatického aparátu parazitického elementu L1 vést ke vzniku úplně nového savčího genu.

Tyto příklady mohou demonstrovat zjevný negativní, neutrální a pozitivní vliv retropozice na lidský genom. Retropozice je spojena především s elementem L1, který je značně autonomní vůči zbytku lidského genomu, a interakce tohoto elementu s genomem tedy můžeme také popsat ekologickými termíny jako jsou parazitismus, komensalismus či mutualismus (symbióza). Uvedené příklady spolu s dalšími, které se objevují v současné literatuře (role retropozonů při regulaci exprese genů, přestavbách chromozómů potenciálně vedoucích ke speciaci, transdukci exonů, vytváření nových variant sestřihu, přímé domestikaci funkcí retroelementů, a dalších), ukazují, že retropozice a s ní spojené elementy představují vnitřní mechanismus výrazně přispívající k plasticitě genomu a ke schopnosti evoluční změny (evolvabilitě) genomu a jeho nositele. Jejich zařazení jako čistě parazitických elementů tak, alespoň v dnešní fázi evoluce, v některých případech neodpovídá úplně skutečnosti. Hodnocení fenoménu retropozice závisí také na úhlu pohledu a posuzovaném časovém měřítku, a může se proto výrazně lišit u medicíny a evoluční biologie.

Doc. Ing. Zdeněk Sedláček, DrSc.