

EWELINA ŁOJEWSKA, SZYMON A. OLEJNICZAK, TOMASZ SAKOWICZ

*Katedra Genetyki Ogólnej
Biologii Molekularnej i Biotechnologii Roślin
Wydział Biologii i Ochrony Środowiska
Uniwersytet Łódzki
Banacha 12/16 90-237 Łódź
E-mail: ewelina.lojewska@biol.uni.lodz.pl*

ZWIĄZEK AKTYWNOŚCI TRANSPOZONÓW LINE Z WYBRANYMI CHOROBYMI GENETYCZNYMI CZŁOWIEKA

WSTĘP

Rozproszone elementy genetyczne typu LINE (ang. long interspersed nuclear elements) należą do grupy powtarzających się, ruchomych elementów, szeroko rozpowszechnionych w genomach eukariotycznych. Stanowią blisko 20% genomu ludzkiego i występują w ilości ok. 516 tys. kopii w regionach ubogich w geny (LANE i współaut. 2003). Rozprzestrzeniają się przy udziale odwrotnej transkryptazy. Oryginalne elementy ulegają transkrypcji, a powstałe RNA, po przepisaniu na DNA, wbudowywane są w nowe miejsca genomu. LINE to obecnie jedyne aktywne i autonomiczne elementy ruchome zaliczane do grupy retrotranspozonów. Jedyne niewielka część z nich zachowała swoją aktywność transkrypcyjną. Pozostałe, w trakcie ewolucji, na skutek zmian strukturalnych utraciły swoje pierwotne cechy. Uszkodzenia dotyczą głównie końców 5' oraz licznych wewnętrznych delecji, których efektem jest przedwczesna terminacja nici DNA i, w konsekwencji, utrata pierwotnej funkcji elementów. Aktywne elementy pełnej długości, których pulę w genomie ludzkim szacuje się na 80–100 (GOODIER 2014), są źródłem licznych insercji *de novo* i rekombinacji homologicznych między elementami danej rodziny (BROUHA i współaut. 2003). Zmiany strukturalne genomu, będące konsekwencją opisanych zjawisk, prowadzą do rearanżacji jego pierwotnej architektury i mogą stanowić podłoże wielu chorób, w tym nowotworowych jak: rak skóry, jelita grubego, piersi

czy białaczka, którym to poświęcono najwięcej badań. Do tej pory zidentyfikowanych zostało ponad 100 chorób ludzkich związanych z aktywnością retrotranspozonów. Podatność różnych regionów genomu na insercje ruchomych elementów nie jest jednakowa; szczególnie liczne choroby związane są z uszkodzeniem genów zlokalizowanych w chromosomie X. Jednym z najistotniejszych mechanizmów regulujących aktywność elementów LINE są zmiany w poziomie metylacji DNA sekwencji genomowych. Dotyczy to zarówno zmian w skali globalnej (hipometylacja DNA), jak i lokalnej hipermetylacji wysp CpG w promotorach genów. Konsekwencjami wzrostu aktywności elementów LINE są niestabilność genomowa, zmiany ekspresji licznych genów (również odpowiedzialnych za procesy chorobowe), zaburzenia procesu alternatywnego splicingu (składanie genów), generowanie sygnałów poliadenylacji czy alternatywnych promotorów. W prawidłowych komórkach somatycznych elementy L1 (jedyne, aktywne we wszystkich genomach ssaków element LINE) są silnie metylowane, co stanowi kluczowy czynnik ograniczający ich aktywność transpozycyjną. Utrata globalnej metylacji DNA była pierwszą epigenetyczną zmianą jaką wykazano w ludzkich komórkach nowotworowych (FEINBERG i VOGELSTEIN 1983). Mimo złożonych mechanizmów kontroli integralności genomu, nie jest on strukturą stabilną, w czym znaczącą rolę odgrywają retrotranspozony (obok nich również sekwencje Alu należące do SINE; ang. short interspersed nuclear element) i czyn-

Słowa kluczowe: aktywność transpozonów, choroby genetyczne człowieka, genetyka nowotworów, LINE, sekwencje L1

niki doprowadzające do ich aktywacji. W efekcie dochodzi do zmian strukturalnych i funkcjonalnych genomu (MIKI i współaut. 1992). Ostatnie lata przynoszą coraz więcej danych łączących aktywność opisywanych elementów z chorobami genetycznymi. Wielu autorów zwraca uwagę na powiązanie tych procesów z modyfikacjami epigenetycznymi, które przeciwnie do zmian w pierwszorzędowej strukturze DNA, są odwracalne i mogą stać się celem działania leków przywracających aktywność genów istotnych dla prawidłowego funkcjonowania komórek (BARRY i współaut. 2015).

STRUKTURA LINE

LINE osiągają długość ok. 6 kpz. Ich najbardziej reprezentatywny przedstawiciel w genomie człowieka to elementy L1 (DOMBROSKI i współaut. 1991). Nieuszkodzone postaci L1 (w toku ewolucji liczne utraciły fragmenty pierwotnej struktury) wyposażone są w dwie otwarte ramki odczytu, niezbędne dla utrzymania aktywności elementów. ORF-1 koduje białko opiekuńcze p40 (ok. 40 kDa), które zabezpiecza przed degradacją przejściową hybrydę LINE-mRNA i zaangażowane jest w proces odwrotnej transkrypcji elementów L1 (MARTIN 2010). W odległości 63 pz od ORF-1 zlokalizowana jest ORF-2, druga z otwartych ramek odczytu L1. Koduje ona białko ORF2p o masie ok. 150 kDa złożone z dwóch podstawowych domen: odwrotnej transkryptazy (RT) oraz endonukleazy (EN) odpowiedzialnej za rozpoznanie miejsca insercji L1 i nacinanie nici DNA (KONKEL i BATZER 2010). Kompletna struktura obu opisanych ORF zapewnia prawidłowy przebieg procesu retrotranspozycji (BECK i współaut.

2011). Koniec 5' elementów L1 to bogaty w motywy CpG region, nie ulegający translacji (5'UTR) z obecnym tu silnym, wewnętrznym promotorem polimerazy RNA II, a także promotorem o słabo poznanej funkcji, zlokalizowanym na nici antysensownej (SPEEK 2001). Z regionem tym wiążą się liczne czynniki transkrypcyjne modulujące aktywność promotora RNAPol II (m.in. RUNX3) (YANG i współaut. 2003).

INSERCJE ELEMENTÓW L1 A CHOROBY GENETYCZNE

Najbardziej powszechną konsekwencją mutacji są zaburzenia funkcji genu wynikające z insercji nowych kopii transpozonów. Analiza sekwencji genomu ludzkiego ujawniła liczne geny, w obszarze których zidentyfikowano takie insercje. Wśród nich znajdują się omawiane L1, wywołujące zmiany poziomu ekspresji genów. Insercje tego typu znacznie częściej powodują supresję genów niż ich aktywację. Efekty ich obecności bywają spektakularne, szczególnie gdy elementy L1 znajdują się w intronach genów. Mogą wtedy prowadzić do interferencji w transkrypcji dużej liczby genów, zarówno w zdrowych, jak i w zmienionych nowotworowo tkankach (KAER i współaut. 2011). Insercje L1 są zdolne do generowania różnych form chromosomowych rearanżacji, wywołując genomowe delecje, duplikacje, inwersje czy translokacje.

Część z obecnych w genomie człowieka aktywnych elementów L1 powiązana jest z chorobami genetycznymi, a losowy charakter insercji L1 decyduje o różnorodności wywołanych chorób (Tabela 1 i 2). Większość z nich to rzadkie choroby recesywne. Najle-

Tabela 1. Insercje L1 w genach chromosomu X (wybrane przykłady na podstawie (Konkel i współaut. 2010)).

Długość insercji	Gen	Region genu (E -ekson/ I - intron)	Choroba
6017 pz	CHM	E	choroideremia
6000 pz	RP2	I	barwnikowe zwyrodnienie siatkówki (X-LRP)
2300 i 3800 pz	FVIII	E	hemofilia typu A
2800 pz	RPS6KA3	E	syndrom Coffina-Lowry'ego
836 pz	CYBB	I	przewlekła choroba ziarniniakowa CGD
1722 pz	CYBB	E	przewlekła choroba ziarniniakowa CGD
452 pz	DMD	E	dystrofia mięśniowa Duchenne'a (DMD)
608 pz	DMD	E	dystrofia mięśniowa Duchenne'a (DMD)
1400 pz	DMD	E	dystrofia mięśniowa Duchenne'a (DMD)
463 pz	FIX	E	hemofilia typu B
163 pz	FIX	E	hemofilia typu B

Tabela 2. Insercje L1 w genach pozostałych chromosomów i związane z nimi choroby (na podstawie (Miki 1998)).

Chromos	Długość insercji	Gen	Region genu (E – ekson/ I – intron)	Choroba
3	6000 pz	ABDH5	I	syndrom Chanarina-Dorfmana – CDS
5	700 pz	APC	E	rodzinna polipowatość gruczołakowata jelita grubego
8	3756 pz	EYA1	E + I	syndrom BOR
9	1200 pz	FCMD	I	wrodzona dystrofia mięśniowa typu Fukuyama
9	1300 pz	STX	E	ataksja z apraksją okoruchową
11	6000 pz	HBB	I	β -talasemia
11	6083 pz	PDHX	E	zespół niedoboru dh. pirogronianowej
11	1800 pz	PNPLA2	E	naturalne gromadzenie lipidów z subkliniczną miopatią
17	6000 pz	NF1	E	neurofibromatoza typu I
17	1800 pz	NF1	E	neurofibromatoza typu I
5	520 pz	APC	E	rak jelita grubego

piej udokumentowane prace dotyczą różnych postaci nowotworów. Wyniki badań RODIĆ i współaut. (2014) wykonane na ponad 1000 próbkach komórek różnych typów nowotworów, w ponad 50% z nich identyfikują obecność kodowanego przez L1 białka ORF1p. Jednocześnie nie stwierdzono jego obecności w komórkach prawidłowych, a w komórkach wczesnych stadiów raka było bardzo rzadkie. Tak więc, poziom białka ORF1p w badanych komórkach można traktować jako jeden z rodzajów markera wykorzystywanego w diagnostyce nowotworów. Potwierdzają to wyniki prac ZHU i współaut. (2013) nad wymuszoną nadekspresją ORF1p, która prowadziła do proliferacji nowotworu, co wydaje się wskazywać na onkogeną rolę opisywanego białka kodowanego przez L1.

Chromosomowa lokalizacja konkretnych insercji L1 wskazuje, że najliczniejsze z nich wykryte zostały w genach chromosomu X. W trakcie ewolucji, większość kopii L1, poza licznymi mutacjami punktowymi, traciła części pierwotnej struktury, stąd obecne „wstawki” L1 w genach są często fragmentami elementów oryginalnych. Obok nich, można jednak wskazać również takie, które zachowały pełną długość ok. 6 kbp (Tabela 1 i 2). Insercje pojawiają się zarówno w obszarze eksonów, jak i intronach genów. Jak już wspomniano, znacząca część badań wszelkich form aktywności LINE w powiązaniu z chorobami ludzkimi, dotyczy prac nad nowotworami (czemu poświęcono niezależny

artykuł przeglądowy) (SAKOWICZ i FRASIŃSKI 2015). Pewna pula danych dotyczy też schorzeń innych niż nowotwory czemu dano wyraz w danych zawartych w Tabeli 1.

Spośród wymienionych w Tabeli 1 chorób, uwagę zwraca dystrofia Duchenne’a, najczęstsza i najcięższa z postępujących dystrofii mięśniowych, związana z defektami genu *DMD*. Aktywność L1 może m.in. zaburzać przebieg alternatywnego splicingu, zjawiska mającego miejsce w przypadku 95% genów multieksonowych (CHEN i WEISS 2015). W przypadku tej choroby insercje L1 pojawiają się w trzech różnych eksonach *DMD*, a wielkość wbudowanych fragmentów L1 wynosi 452-1400 pz (AWANO i współaut. 2010). Kopie elementów L1 pełnej długości zostały wbudowane w geny *CHM* i *RP2*. Defekt pierwszego z nich wywołuje choroideremię, nieuleczalną, dziedziczną chorobę wrodzonego uszkodzenia naczyń włosowatych naczyniówki, prowadzącą do ślepoty (VAN DEN HURK i współaut. 2003). Polega ona na postępującym zaniku nabłonka barwnikowego i naczyń krwionośnych naczyniówki. Uszkodzenie drugiego z wymienionych genów prowadzi do barwnikowego zwyrodnienia siatkówki (X-LRP), choroby powodującej stopniową utratę wzroku (SCHWAHN i współaut. 1998).

Insercje elementów L1 i związane z nimi mutacje, wywołujące określone choroby obecne są również w genach chromosomów: 3, 8, 11, 17 (Tabela 2), a pierwsza, opisa-

ną w literaturze ludzką chorobą związaną z transpozycją L1 była hemofilia A, wiązana z dużą, mutagenną insercją L1 w eksonie genu czynnika VIII i niezdolnością do syntezy funkcjonalnego czynnika krzepnięcia (KAZAZIN i współaut. 1988).

Od dawna przypuszczano, że transpozycja L1 może być powiązana z powstawaniem nowotworów. Brak precyzyjnych narzędzi niezbędnych do wykrywania tego typu zmian długo nie pozwalał na weryfikację tej hipotezy. Dopiero praca MIKI i współaut. (1992) na temat przyczyn raka jelita grubego połączyła go z insercją L1 w eksonie genu APC i zaburzeń jego funkcji. W kolejnych latach, możliwość stosowania zaawansowanych technik molekularnych pozwoliła wykazać, że wiele postaci ludzkich nowotworów ma bezpośrednie powiązanie z obecnością somatycznych transpozycji L1 (m.in. rak jelita grubego, płuc, prostaty i raka jajnika) (ISKOW i współaut. 2010). Mimo znaczącego postępu prac nad opisywanym zagadnieniem nie udaje się jednoznacznie zdefiniować odpowiedzi na pytanie, czy to zjawisko retrotranspozycji stanowi rodzaj siły napędowej procesu nowotworzenia czy jest raczej jednym z efektów inicjacji nowotworu?

Obok zmian w obszarach genów wymienionych w Tabelach 1 i 2, wskazać można też duże delecje w obszarze tzw. sekwencji niekodujących, wywołane aktywnością L1. I tak, insercja 3756 pz w obszarze genu *EYA1* powoduje jednocześnie delecję fragmentu genomowego DNA wielkości 17 kbp w chromosomie 8, a konsekwencją obu tych zdarzeń jest dziedziczna, autosomalnie dominująca choroba nerek i uszu opisana jako zespół BOR (ang. branchio-oto-renal syndrome) (MORISADA i współaut. 2010). Podobna sytuacja ma miejsce w chromosomie 11, gdzie insercja elementu L1 w genie *PDHX* powoduje dużą delecję genomową wielkości 46 kbp. Białko kodowane przez gen *PDHX* jest niezbędne do stabilizacji podjednostki E2 kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej (o aktywności transacetylazy dihydroli-poamidowej), która to odpowiada za aktywność katalityczną całego kompleksu. Niepełna aktywność kompleksu dehydrogenazy pirogronianowej powoduje intensywną fermentację mlekową, która wprowadza organizm w stan kwasicy mlekowej, ta zaś wywołuje nudności i wymioty, pierwsze objawy spowodowane nieprawidłowym działaniem komórek nerwowych. Dalszy spadek aktywności dehydrogenazy pirogronianowej (ang. PDHc deficiency), prowadzi do zaburzeń neurodegeneracyjnych związanych z nieprawidłowym metabolizmem mitochondrialnym i wynikających z niego zmian w metabolizmie komórkowym (MINE i współaut. 2007).

Oprócz chorób związanych z insercjami L1 *de novo*, elementy te stanowią też matrycę dla nierównomiernej rekombinacji homologicznej, czego konsekwencjami bywają delecje w sekwencjach genowych (ang. L1 recombination-associated deletions, L1RADs). Większość takich przypadków dotyczy krótkich elementów typu Alu, niemniej odnotowano też kilka takich sytuacji z udziałem kopii elementów L1. Prowadzą one do zmian chorobowych opisanych jako zespół Alporta, zespół Ellisa-van Crevelda czy glikogenoza. Pierwszy z wymienionych (ang. Alport syndrome), to uwarunkowane genetycznie, postępujące schorzenie nerek, charakteryzujące się hematurią, często skojarzoną z neurogenną głuchotą i zmianami w obrębie narządu wzroku. Zespół Ellisa-van Crevelda, zwany też dysplazją chondroektodermalną (ang. Ellis-van Creveld syndrome, mesoectodermal dysplasia), to genetycznie uwarunkowany zespół wad wrodzonych o charakterze nieprawidłowego rozwoju zębów, paznokci, włosów i gruczołów skórnych. Glikogenoza związana jest z brakiem lub niedoborem glukozo-6-fosfatazy niezbędnej w glukoneogenezie. Wśród jej objawów klinicznych dominuje hepatomegalia, hipoglikemia oraz kwasica mlekczanowa (HAN i współaut. 2008).

Wiele wskazuje, że analizy genomu ludzkiego, dokonywane w oparciu o wyniki sekwencjonowania II i III generacji, dostarczą nowych danych na temat chorób genetycznych związanych z aktywnością opisywanych elementów.

METYLACJA DNA VS. AKTYWNOŚĆ LINE

Metylacja DNA to jeden z podstawowych czynników epigenetycznych mogący zaburzać prawidłową ekspresję genów zaangażowanych w regulację procesów komórkowych. Analiza jej profilu w badanym materiale wydaje się istotna w wyjaśnieniu mechanizmów procesów chorobowych, w tym, transformacji nowotworowej. Zjawisko to dotyczy całego genomu i może przybierać charakter zmian globalnych lub lokalnych. Dominującą część genomów eukariotycznych stanowią sekwencje powtarzające się, stąd poziom ich metylacji, w głównej mierze, odpowiedzialny jest za metylację globalną (regiony międzygenowe i introny).

W niekodujących regionach genomu ludzkiego opisywane sekwencje, do których należą elementy typu LINE i SINE (reprezentowane przez L1 i Alu), stanowią łącznie ponad 40%. W komórkach prawidłowych są one silnie metylowane, co ogranicza poziom ich aktywności (MIOUSSE i KOTURBASH 2015). Zjawiska wywołujące spadek poziomu me-

tylacji tych sekwencji powodują zmiany w strukturze genomu i spadek jego stabilności, a przy tej okazji, zmiany w pierwotnej aktywności genów. Taki proces obserwowano m.in. w wielu postaciach ludzkich nowotworów. Hipometylację elementów L1 opisywano w praktycznie wszystkich ludzkich nowotworach. I tak, ma ona miejsce w przypadkach raka jelita grubego (LOU i współaut. 2015), w raku piersi (PARK i współaut. 2014), raku przewodu pokarmowego (BABA 2014), raku prostaty (SUNAMI i współaut. 2011), gruczolakoraka płuc (IKEDA i współaut. 2013) czy w raku szpiku kostnego (URIBE-LEWIS i współaut. 2011). Wspólną cechą komórek nowotworowych jest globalna hipometylacja DNA, której towarzyszy hipermetylacja wysp CpG w regionach promotorowych genów. Poziom metylacji ruchomych elementów można traktować jako użyteczny marker metylacji całego genomu, a jej spadek łączyć z wczesnymi etapami nowotworów, co stwarza szanse monitorowania postępów choroby (POBSOOK i współaut. 2011). Przytoczone prace dokumentują spadek zawartości 5-metylocytozyny (5-mC) w komórkach nowotworowych (nawet do kilkunastu procent w porównaniu z komórkami prawidłowymi) (EHRlich 2002). Sytuacja ta prowadzi do wzmożonej amplifikacji L1 i wbudowywania ich kopii w nowe miejsca, a w konsekwencji zaburzenia stabilności genomu.

Badania zmierzające do prób powiązania poziomu metylacji sekwencji powtarzających się z chorobami o podłożu innym niż nowotwory prowadzone były m.in. przez BOLLATI i współaut. (2011). Dotyczyły np. chorych ze zdiagnozowaną chorobą Alzheimera i wykazały obniżony poziom 5-mC wobec poziomu u osób zdrowych. Interpretacja tych wyników wymaga jednak dalszej weryfikacji. Liczne doniesienia wskazują bowiem na zmianę profilu metylacji genomu wraz z wiekiem. Proces starzenia się organizmów sprzyja podwyższonej podatności na choroby, a równocześnie towarzyszy mu wzrost hipometylacji globalnej oraz hipermetylacja wysp CpG w obszarze promotorów (CHRISTENSEN i współaut. 2009), a w konsekwencji obniżenie ogólnej stabilności genomu i podwyższona metylacja promotorów, które to mogą przyczyniać się do rozwoju stanów patologicznych.

CZYNNIKI STYMULUJĄCE AKTYWNOŚĆ L1

Jak wspomniano wcześniej, jednym z kluczowych czynników stymulujących aktywność retrotranspozonów jest spadek poziomu metylacji genomu, w tym również jego ruchomych elementów genetycznych.

Przyczyn powodujących taką sytuację może być wiele i związane są z regulacją mechanizmów wewnątrz- i zewnątrzkomórkowych. Do pierwszej kategorii zaliczyć można m.in. aktywność komórkowych metylotransferaz, enzymów wśród których wymienić należy metylazy: DNMT1 zaangażowaną w metylację zachowawczą i aktywne na etapie rozwoju embrionalnego metylazy DNMT3a i DNMT3b, katalizujące proces metylacji *de novo*. Wypadkowa aktywność wymienionych powyżej enzymów decyduje o profilu metylacji genomowego DNA. Badania SARABI i NAGHIBALHOSSAINI (2015) wskazują, że spadek ekspresji genów kodujących wymienione metylazy prowadzi do hipometylacji genomowych sekwencji repetytywnych. Nie bez znaczenia mogą być też zaburzenia w przebiegu szlaków metabolicznych. Badania GIORGI i współaut. (2011) wskazują na stres oksydacyjny jako kolejny czynnik promujący hipometylację elementów L1, a jednocześnie zaburzający ekspresję genów biorących udział w naprawie DNA. Badania przeprowadzone na myszach wskazują, że innym czynnikiem indukującym hipometylację L1 jest komórkowa IL-6, jedna z najbardziej wielokierunkowo działających cytokin (LANE i współaut. 2003).

Poza wewnętrznymi mechanizmami kontroli stabilności genomu, wpływ na aktywność ruchomych elementów mają też czynniki środowiskowe, z których wiele pobudza aktywność omawianych sekwencji. Niektóre związki rtęci (HgS), kadmu (CdS) czy niklu (NiO) powodowały nawet trzykrotny wzrost aktywności transkrypcyjnej genów kodowanych przez L1 w hodowlach komórek ludzkich (KALE i współaut. 2005). Wyniki kolejnych badań dowodzą, że szereg innych czynników środowiskowych jak: szok termiczny, infekcje wirusowe czy promieniowanie gamma również mogą indukować procesy aktywnej transpozycji L1 (CHÉNAIS 2013). Wskazanie bezpośredniej zależności między wpływem tych czynników na aktywność ruchomych elementów a generowaniem określonych chorób nie jest łatwe. Wyniki omawianych badań dowodzą jednak, że zmiany genomu wynikające z aktywności elementów LINE (również SINE) są bardziej powszechne m.in. w różnych postaciach nowotworów niż tkankach zdrowych (CARRIERA i współaut. 2014).

PODSUMOWANIE

Mnogość cytowanych w pracy przykładów dowodzi złożoności opisywanego zjawiska. Jednocześnie, wskazuje na duże zainteresowanie badaczy, szczególnie w kontekście licznych i różnorodnych chorób człowieka (w

tym nowotworów), których część kojarzona może być z aktywnością omawianych LINE. Można przypuszczać, że nowe podejścia metodyczne oparte np. o technologie sekwencjonowania nowej generacji sprawią, iż pula informacji dotycząca aktywności ruchomych elementów genetycznych oraz czynników ją indukujących, w powiązaniu z chorobami genetycznymi, będzie znacząco rosła. Analizy bazujące na pełnej sekwencji genomów jednoznacznie wskazują, że aktywności transpozonów nie należy rozpatrywać jedynie w odniesieniu do specyficznych genów. Również insercje kopii tych elementów w regionach tzw. sekwencji niekodujących mogą przyczynić się do zmiany w stabilności genomu i generować, powiązane z nią, procesy chorobowe.

Streszczenie

Sekwencje LINE należą do grupy ruchomych elementów genetycznych w genomach eukariotycznych. Rozprzestrzeniają się w nich według modelu „kopiuji i wklej” za pośrednictwem RNA i odwrotnej transkryptyazy. W genomie ludzkim zlokalizowano ponad 500 tys. kopii tych elementów, niemniej nieliczne z nich zachowują swoją aktywność. Jej konsekwencją jest destabilizacja struktury genomu powodująca m.in. zaburzenia ekspresji genów, alternatywnego splicingu czy aktywację alternatywnych promotorów. Transpozycja LINE to proces aktywny głównie we wczesnych stadiach embriogenezy, natomiast w prawidłowych komórkach somatycznych tłumiona jest za pomocą mechanizmów epigenetycznych. Zmiany w poziomie metylacji DNA tych elementów są jednym z głównych wskaźników ich aktywności związanej z licznymi chorobami genetycznymi. Najpełniej opisane zostały zależności między aktywnością LINE a różnymi postaciami nowotworów.

LITERATURA

- AWANO H., MALUEKA R. G., YAGI M., OKIZUKA Y., TAKESHIMA Y., MATSUO M., 2010. *Contemporary retrotransposition of a novel non-coding gene induces exon-skipping in dystrophin mRNA*. J. Hum. Genet. 55, 785-790.
- BABA Y., MURATA A., WATANABE M., BABA H., 2014. *Clinical implications of the LINE-1 methylation levels in patients with gastrointestinal cancer*. Surg. Today. 44, 1807-1816.
- BARRY K. H., MOORE L. E., LIAO L. M., HUANG W. Y., ANDREOTTI G., POULIN M., BERNDT S. I., 2015. *Prospective study of DNA methylation at LINE-1 and Alu in peripheral blood and the risk of prostate cancer*. Prostate 75, 1718-1725.
- BECK C. R., GARCIA-PEREZ J. L., BADGE R. M., MORAN J. V., 2011. *LINE-1 elements in structural variation and disease*. Ann. Rev. Genom. Hum. Genet. 12, 187-215.
- BOLLATI V., GALIMBERTI D., PERGOLI L., DALLA VALLE E., SCARPINI E., BERTAZZI P. A., BACCARELLI A., 2011. *DNA methylation in repetitive elements and Alzheimer disease*. Brain Behav. Immun. 25, 1078-1083.
- BROUHA B., SCHUSTAK J., BADGE R. M., LUTZ-PRIGGE S., FARLEY A. H., MORAN J. V., KAZAZIAN H. H., JR., 2003. *Hot L1s account for the bulk of retrotransposition in the human population*. Proc. Natl Acad. Sci. USA 100, 5280-5285.
- CARREIRA P. E., RICHARDSON S. R., FAULKNER G. J., 2014. *L1 retrotransposons, cancer stem cells and oncogenesis*. FEBS J. 281, 63-73.
- CHEN J., WEISS W. A., 2015. *Alternative splicing in cancer: implications for biology and therapy*. Oncogene 34, 1-14.
- CHÉNAIS B., 2013. *Transposable elements and human cancer: a causal relationship?* Biochim. Biophys. Acta 1835, 28-35.
- CHRISTENSEN B. C., HOUSEMAN E. A., MARSIT C. J., ZHENG S., WRENSCH M. R., WIEMELS J. L., SUGARBAKER D. J., KELSEY K. T., 2009. *Aging and environmental exposures alter tissue-specific DNA methylation dependent upon CpG island context*. PLoS Genet. 5: e1000602.
- DOMBROSKI B. A., MATHIAS S. L., NANTHAKUMAR E., SCOTT A. F., KAZAZIAN H. H. JR., 1991. *Isolation of an active human transposable element*. Science 254, 1805-1808.
- EHRlich M., 2002. *DNA methylation in cancer: too much, but also too little*. Oncogene 21, 5400-5413.
- FEINBERG A. P., VOGELSTEIN B., 1983. *Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts*. Nature 301, 89-92.
- GIORGI G., MARCANTONIO P., DEL RE B., 2011. *LINE-1 retrotransposition in human neuroblastoma cells is affected by oxidative stress*. Cell Tissue Res. 346, 383-391.
- GOODIER J. L., 2014. *Retrotransposition in tumors and brains*. Mobile DNA 5, 11-19.
- HAN K., LEE J., MEYER T. J., REMEDIOS P., GOODWIN L., BATZER M. A., 2008. *L1 recombination-associated deletions generate human genomic variation*. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 105, 19366-19371.
- IKEDA K., SHIRAIISHI K., EGUCHI A., SHIBATA H., YOSHIMOTO K., BABA Y., BABA H., SUZUKI M., 2013. *Long interspersed nucleotide element 1 hypomethylation is associated with poor prognosis of lung adenocarcinoma*. Ann. Thorac. Surg. 96, 1790-1794.
- ISKOW R. C., MCCABE M. T., MILLS R. E., TORENE S., PITTARD W. S., NEUWALD A. F., DEVINE S. E., 2010. *Natural mutagenesis of human genomes by endogenous retrotransposons*. Cell 141, 1253-1261.
- KAER K., BRANOVETS J., HALLIKMA A., NIGUMANN P., SPEEK M., 2011. *Intronic L1 retrotransposons and nested genes cause transcriptional interference by inducing intron retention, exonization and cryptic polyadenylation*. PLoS One 6, e26099.
- KALE S. P., MOORE L., DEININGER P. L., ROY-ENGEL A. M., 2005. *Heavy metals stimulate human LINE-1 retrotransposition*. Int. J. Environ. Res. Public Health 2, 14-23.
- KAZAZIAN H. H. JR., WONG C., YOUSOUFIAN H., SCOTT A. F., PHILLIPS D. G., ANTONARAKIS S. E., 1988. *Haemophilia A resulting from de novo insertion of L1 sequences represents a novel mechanism for mutation in man*. Nature 332, 164-166.
- KONKEL M. K., BATZER M. A., 2010. *A mobile threat to genome stability: The impact of non-LTR retrotransposons upon the human genome*. Semin. Cancer Biol. 20, 211-221.
- LANE N., DEAN W., ERHARDT S., HAJKOVA P., SURANI E., WALTER J., REIK W., 2003. *Resistance of IAPs to methylation reprogramming may provide a mechanism for epigenetic inheritance in the mouse*. Genesis 35, 88-93.

- LOU Y. T., CHEN C. W., FAN Y. C., CHANG W. C., HUANG C. W., WANG J. Y., 2015. *LINE-1 methylation status correlates significantly to post-therapeutic recurrence in stage III colon cancer patients receiving FOLFOX-4 adjuvant chemotherapy*. PLoS One 10, e0123973.
- MARTIN S. L., 2010. *Nucleic acid chaperone properties of ORF1p from the non-LTR retrotransposon, LINE-1*. RNA Biol. 7, 706-711.
- MIKI Y., 1998. *Retrotranspositional integration of mobile genetic elements in human diseases*. J. Hum. Genet. 43, 77-84.
- MIKI Y., NISHISHO I., HORII A., 1992. *Disruption of the APC gene by a retrotranspositional insertion of L1 sequence in a colon cancer*. Cancer Res. 52, 643-645.
- MINE M., CHEN J. M., BRIVET M., DESGUERRE I., MARCHANT D., DE LONLAY P. i współaut., 2007. *A large genomic deletion in the PDHX gene caused by the retrotranspositional insertion of a full-length LINE-1 element*. Hum. Mutat. 28, 137-142.
- MIOUSSE I. R., KOTURBASH I., 2015. *The fine LINE: methylation drawing the cancer landscape*. Biomed. Res. Int. 2015, <http://dx.doi.org/10.1155/2015/131547>.
- MORISADA N., RENDTORFF N., NOZU K., MORISHITA T., MIYAKAWA T., MATSUMOTO T., SHIRAHATA A. i współaut., 2010. *Branchio-oto-renal syndrome caused by partial EYA1 deletion due to LINE-1 insertion*. Pediatr. Nephrol. 25, 1343-1348.
- PARK S. Y., SEO A. N., JUNG H. Y., JUNG N., CHO N. Y., KANG G. H., 2014. *Alu and LINE-1 hypomethylation is associated with HER2 enriched subtype of breast cancer*. PLoS One 9, e100429.
- POBHOOK T., SUBBALEKHA K., SANNIKORN P., MUTIRANG A., 2011. *Improved measurement of LINE-1 sequence methylation for cancer detection*. Int. J. Clin. Chem. 412, 314-321.
- RODIĆ N., SHARMA R., SHARMA R., ZAMPELLA J., DAI L., TAYLOR M. S., HRUBAN R. H., IACOBUIZIO-DONAHUE C. A. i współaut., 2014. *Long interspersed element-1 protein expression is a hallmark of many human cancers*. Am. J. Pathol. 184, 1280-1286.
- SAKOWICZ T., FRASIŃSKI S., 2015. *Retrotranspozony a podatność na choroby nowotworowe*. Post. Biol. Kom. 42, 445-464.
- SARABI M. M., NAGHIBALHOSSAINI F., 2015. *Association of DNA methyltransferases expression with global and gene-specific DNA methylation in colorectal cancer cells*. Cell Biochem. Funct. 33, 427-433.
- SCHWAHN U., LENZNER S., DONG J., FEIL S., HINZMANN B., VAN DUJNHOFEN G., PINCKERS A. J., 1998. *Positional cloning of the gene for X-linked retinitis pigmentosa 2*. Nat. Genet. 19, 327-332.
- SPEEK M., 2001. *Antisense promoter of human L1 retrotransposon drives transcription of adjacent cellular genes*. Mol. Cell Biol. 21, 1973-1985.
- SUNAMI E., DE MAAT M., VU A., TURNER R. R., HOON D. S., 2011. *LINE-1 hypomethylation during primary colon cancer progression*. PLoS One, 6:e18884.
- URIBE-LEWIS S., WOODFINE K., STOJIC L., MURRELL A., 2011. *Molecular mechanisms of genomic imprinting and clinical implications for cancer*. Expert Rev. Mol. Med. 13, e2.
- VAN DEN HURK J. A., VAN DE POL D. J., WISSINGER B., VAN DRIEL M. A., HOEFSLOOT L. H. i współaut., 2003. *Novel types of mutation in the choroideremia (CHM) gene: a full-length L1 insertion and an intronic mutation activating a cryptic exon*. Hum. Genet. 113, 268-275.
- YANG N., ZHANG L., ZHANG Y., KAZAZIAN H. H. JR., 2003. *An important role for RUNX3 in human L1 transcription and retrotransposition*. Nucl. Acids Res. 31, 4929-4940.
- ZHU Y., FENG F., YU J., SONG B., HU M., GAO X., ZHANG Q., 2013. *L1-ORF1p, a Smad4 interaction protein, promotes proliferation of HepG2 cells and tumorigenesis in mice*. DNA Cell Biol. 32, 531-540.

KOSMOS Vol. 66, 3, 343–350, 2017

EWELINA ŁOJEWSKA, SZYMON A. OLEJNICZAK, TOMASZ SAKOWICZ

*Department of General Genetics, and Plant Molecular Biology and Biotechnology, Faculty of Biology and Environmental Protection,
University of Lodz, Banacha Street 12/16, 90-237 Lodz, E-mail: ewelina.lojewska@biol.uni.lodz.pl.*

ACTIVITY OF LINE TRANSPOSONS AND SELECTED GENETIC DISEASES

Summary

LINE transposons (Long Interspersed Nuclear Elements) are mobile, endogenous genetic elements widespread in eukaryotic genomes. Their ability to spread out with help of reverse transcriptase by using RNA intermediates indicates that they belong to autonomous retrotransposons. Original element is transcribed, then RNA undergoes reverse transcription and as a DNA fragment it is inserted into another part of the genome. Despite of the presence of over 500.000 of their copies in the human genome, majority of LINEs became inactive due to structural changes during the process of evolution. Sequences that retained their original function, play an important role in organization and functioning of genomes. Their activity results in destabilization of a genome structure, as a result of *de novo* insertions of LINEs and changes caused by homologous recombination between them. They can cause changes in the level of gene expression by interfering with alternative splicing (resulting in exon skipping or selecting cryptic splice sites), generating polyadenylation signals or providing alternative promoters. LINE retrotransposition is active mainly during the early stages of embryogenesis. In normal somatic cells this process is silenced by epigenetic mechanisms. Changes in DNA methylation levels of these elements is one of the main indicators of their activity associated with multiple genetic diseases. Correlations between LINE activity and multiple forms of neoplasms are mostly described in this paper.

Key words: cancer genetics, human genetic diseases, L1 sequences, LINE, transposon activity