

Relació dels elements transponibles del genoma humà amb les malalties humanes

García Sánchez, Yaiza¹

¹ Grau Genètica. Facultat de Biociències. Universitat Autònoma de Barcelona.
08193 Cerdanyola del Vallès, Barcelona, Espanya.

Introducció

Els elements transponibles són seqüències de DNA que poden moure's d'un lloc a un altre del genoma (i de vegades entre genomes). Es troben presents en tots els genomes eucariotes seqüenciats fins a la data, i difereixen en la seva abundància i diversitat entre les espècies. El genoma humà no és una excepció ja que el seu paisatge reflexa una llarga història d'activitat dels elements transponibles. Estimes recents han determinat que més de dues tercers parts del genoma humà deriven de la presència o activitat en etapes anteriors d'aquests elements; i actualment es considera que **comprenen aproximadament el 45% del genoma humà**.

En els éssers humans existeixen dues classes principals d'elements mòbils: transposons d'RNA (Classe I), i transposons de DNA (Classe II). Ambdues contenen diferents subgrups, però s'ha demostrat que únicament els retroelements de les superfamílies **L1**, **Alu** i **SVA** que s'inclouen en els ordres de retrotransposons no-LTR LINE (Long Interspersed Element), SINE (Short Interspersed Element) i SVA (SINE-R/VNTR (variable number of tandem repeat)/Alu) respectivament, són **actius actualment en el genoma humà**. Del total d'aquests elements tant sols un cert nombre són competents per a la retrotransposició, i la majoria romanen en el genoma humà sense causar cap perjudici. No obstant, altres poden afectar l'estabilitat del genoma mitjançant la seva transposició, ocasionant l'aparició de malalties humanes.

Al voltant d'un **0,3% de les malalties genètiques humanes estan causades per retroelements**. S'ha constatat que tant les insercions d'aquest elements com les mutacions post-insercionals que produeixen són responsables d'aquesta àmplia varietat de trastorns genètics.

Mecanismes generadors de variació genètica induïda per retrotransposons no-LTR

El conjunt d'elements transponibles actius avui dia en el genoma humà poden generar inestabilitat genòmica per mitjà de diferents mecanismes, els quals en determinades ocasions resulten en malalties humanes.

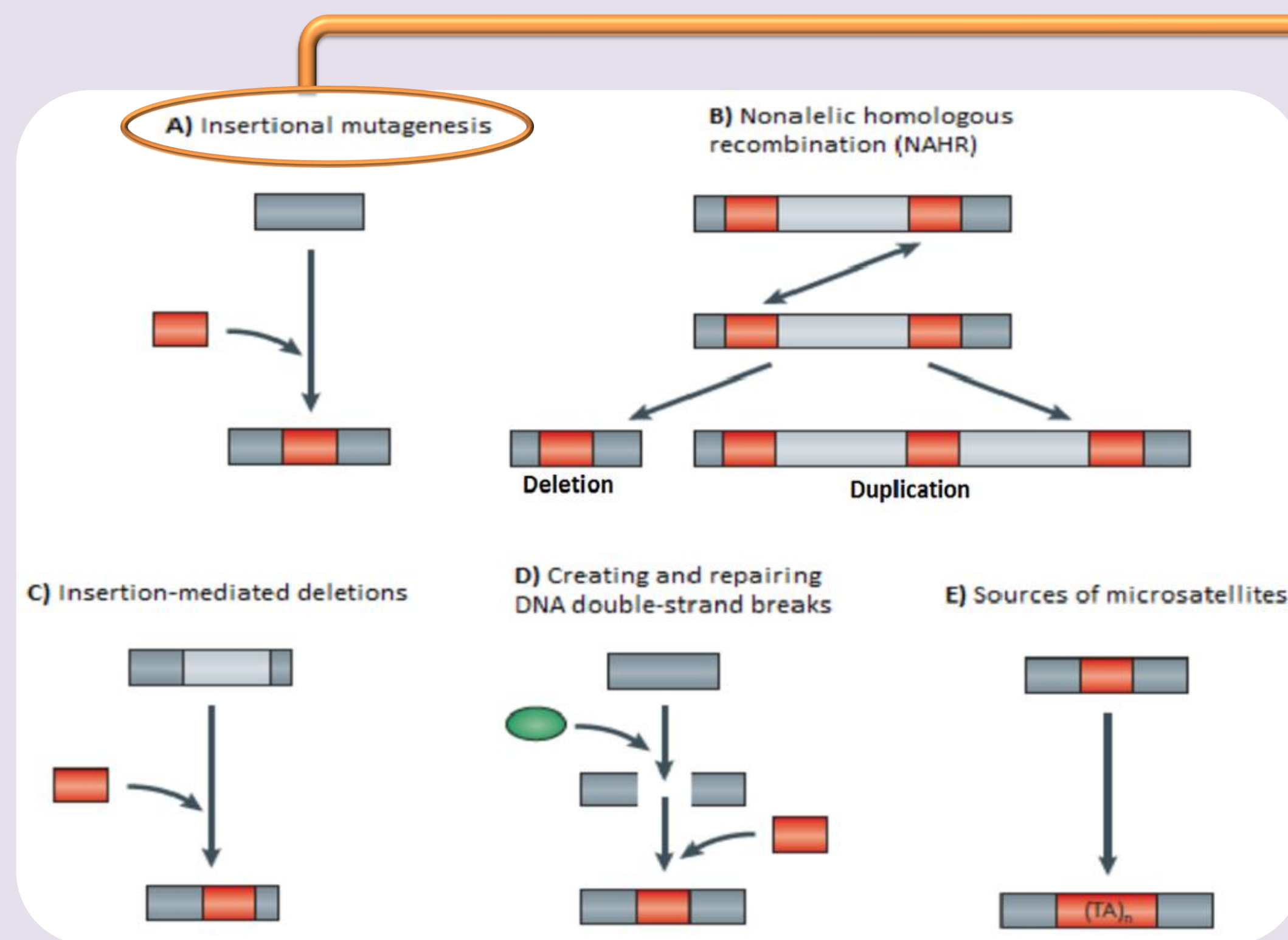


Fig. 2 Mecanismes generadors de variació genètica induïda per retrotransposons.

A) Inserció típica d'un retrotransposó L1, Alu o SVA (rectangle vermell) en un nou lloc genòmic (gris fosc). B) NAHR (punt de fletxa doble). C) Delecció d'una seqüència genòmica (rectangle gris clar). D) La proteïna (oval verd) produïda d'un L1 pot crear DSBs (àrea gris fosc trencada). E) Els microsatèl·lits (p. ex., (TA)_n) poden sorgir dels fragments homopolimèrics dels retrotransposons.

Adaptació de: Cordaux R. and Batzer MA. (2009). The impact of retrotransposons on human genome evolution. Nature reviews. Genetics. 10: 691-703.

Efectes en l'expressió gènica, transcripció i/o l'splicing i conduït a l'alteració de la traducció de l'mRNA.

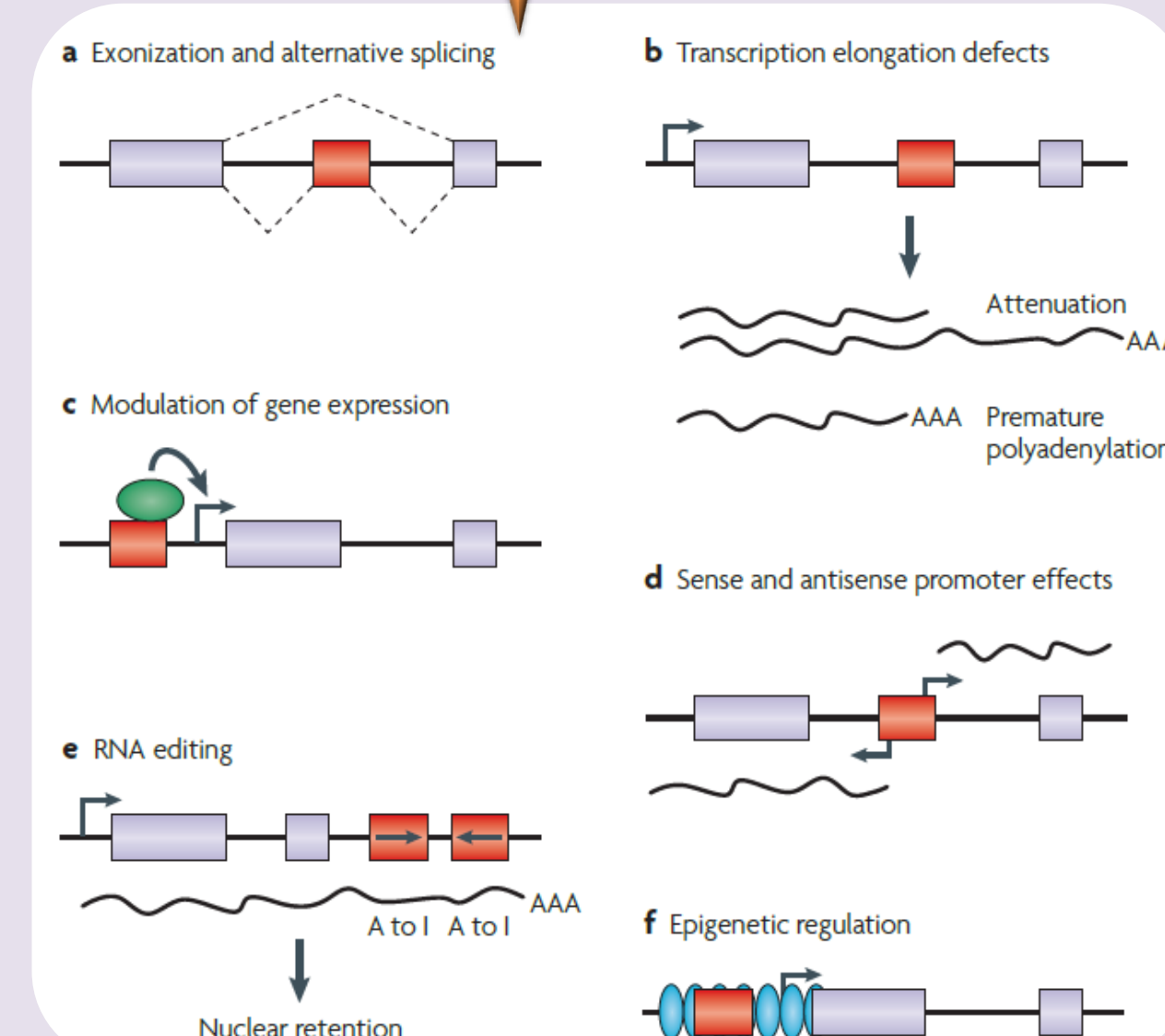


Fig. 3 Efectes en l'expressió gènica produïts pel mecanisme de mutagenesi insercional

Rectangle vermell: retrotransposó; Rectangle gris: exó; Oval verd: factor de transcripció unit a un lloc d'unió contingut en el retrotransposó; Ovals blaus: heterocromatina

Cordaux R. and Batzer MA. (2009). The impact of retrotransposons on human genome evolution. Nature reviews. Genetics. 10: 691-703.

Distribució de les insercions mutagèniques humanes de retrotransposons no-LTR

Els diferents exemples de trastorns produïts per insercions de retrotransposons posen de manifest que certes regions genòmiques poden ser més susceptibles a les insercions de retrotransposons no-LTR que d'altres:

- Insercions afavorides per una conformació activa de la cromatina i per les marques epigenètiques (modificacions d'histones i metilació).
- Elements L1 → majoritàriament en regions riques en AT.
- Elements Alu → àmplia distribució en regions riques en GC.

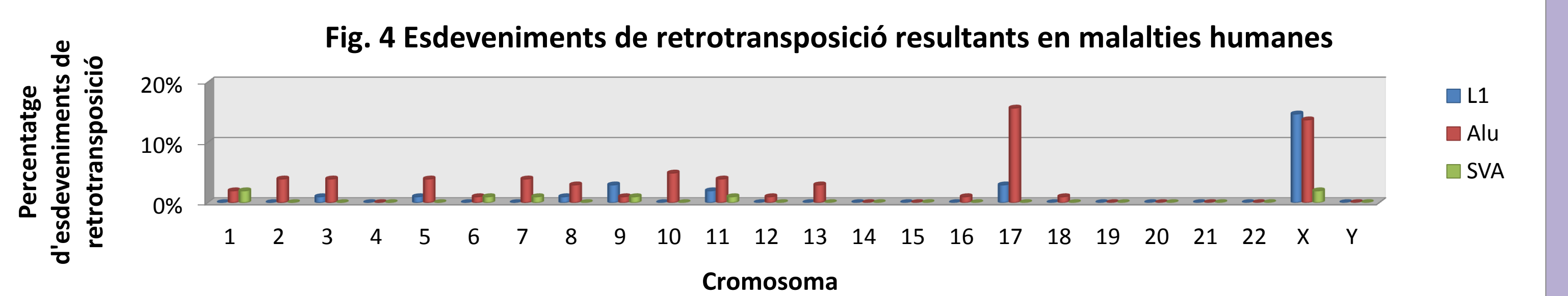


Fig. 4 Esdeveniments de retrotransposició resultants en malalties humanes

Objecte de debat → Possibles motius de la sobrerepresentació de malalties lligades al cromosoma X en comparació amb les autosòmiques:

- ❖ Preferència d'inserció dels retroelements pel cromosoma X.
- ❖ Selecció esbiaixada de la detecció d'insercions de retrotransposons en els gens.
- ❖ Baix de selecció post-insercional → menor taxa de pèrdua d'elements L1 en el cromosoma X degut a:
 - Índex de recombinació reduït d'elements L1.
 - Selecció positiva per la possible participació dels elements L1 en la inactivació del cromosoma X.

Malalties humanes originades per mutagenesi insercional de retroelements no-LTR:

Fins al moment, s'han descrit **102** esdeveniments de retrotransposició resultants en malalties humanes monogèniques, on els elements mòbils insertats pertanyen als 3 ordres actius actualment en el genoma humà. Amb la finalitat d'exemplificar alguns dels efectes patològics que provoquen les insercions de retrotransposons en els gens, es descriu el mecanisme molecular subjacent a l'aparició de 3 d'aquests trastorns.

Inserció L1: Síndrome Coffin-Lowry

- Semidominant lligada al cr. X
- Presentació clínica:
 - Retard psicomotor i del creixement servers
 - Dismorfisme facial
 - Anormalitats en els dígits
 - Deformacions esquelètiques progressives
- Mutacions al gen *RP56KA3* (Xp22.2-p22.1) → 22 exons
- Serina-treonina proteïna quinasa → Via Ras – MAPK
 - Progressió cicle cel·lular, diferenciació i supervivència cel·lular
 - Funcions cognitives del cervell

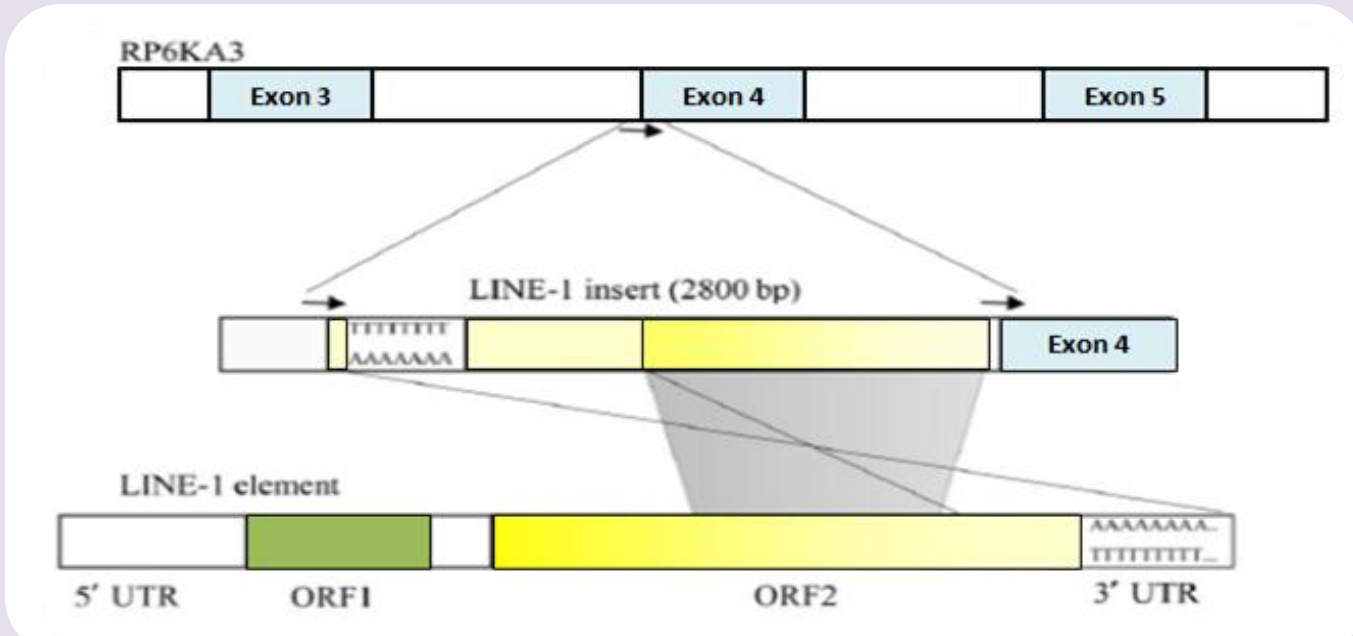


Fig. 5 Visió esquemàtica de la inserció L1 en el pacient amb CLS.

Comparació estructura L1 defectuosa amb longitud total de L1. Fletxes: repeticions curtes duplicades. Adaptació: Martínez-Garay I. et al. (2003). Intronic L1 insertion and F268S, novel mutations in RP56KA3 (RSK2) causing Coffin-Lowry syndrome. Clin Genet. 64: 491-496.

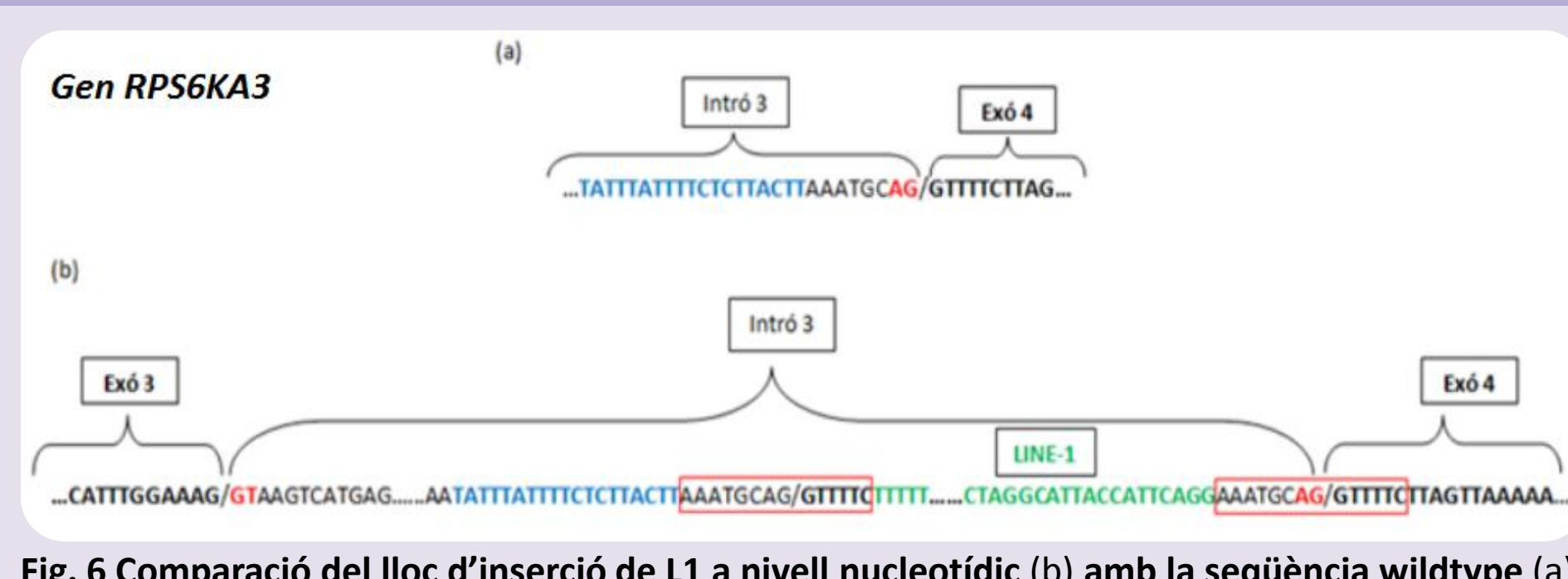


Fig. 6 Comparació del lloc d'inserció de L1 a nivell nucleotídic (a) amb la seqüència wildtype (b).

Vermell: llocs donador i acceptor d'splicing. Blau: tracte de pirimidines. Quadre vermell: repeticions directes. Adaptació: Martínez-Garay I. et al. (2003). Intronic L1 insertion and F268S, novel mutations in RP56KA3 (RSK2) causing Coffin-Lowry syndrome. Clin Genet. 64: 491-496.

- ❖ Inserció L1 defectuosa a la posició -8 de l'intró 3 (prop del lloc acceptor d'splicing):
 - Extrem 5' truncat
 - Inversió cap a 5' (part ORF2 i cua polyA)

- ❖ Conseqüències:
 - Canvi tracte de pirimidines en el lloc acceptor d'splicing de l'intró 3: alteració splicing per defecte en l'ensamblatge de l'spliciosoma → Skipping exó 4.
 - Aparició codó STOP prematur a l'exó 5 → proteïna truncada.

Inserció Alu: Malaltia de Dent 1

- Recessiva lligada al cr. X
- Presentació clínica:
 - Disfunció del túbul proximal
 - Proteïnúria de baix pes molecular
 - Hipercalcúria
 - Nefrolitiasis
 - Nefrocalcinosis
 - Insuficiència renal progressiva
- Mutacions al gen *CLCN5* (Xp11.22) → 11 exons (anomenats 2-12)
- *CLC-5* → Intercanviador electrogènic Cl⁻/H⁺. Família CLC transportadors clorur.
 - Control excitabilitat de la membrana
 - Transport transepitelial
 - Acidificació vesícules sinàptiques i endosomes

- ❖ Inserció Alu a exó 11. Mateixa orientació que *CLCN5*

- ❖ Conseqüències:
 - Alteració interacció SRp40 — motius ESE (exonic splicing enhancer): falta de reconeixement exó 11 durant l'splicing → Skipping exó 11.

Canvi en l'ORF del transcrit, addició de 12 codons nous, i aparició codó STOP prematur.

Proteïna truncada → Eliminació 112aa extrem C-term: motius CBS2 i PY (crítics per correcta funcionalitat de *CLC-5*).

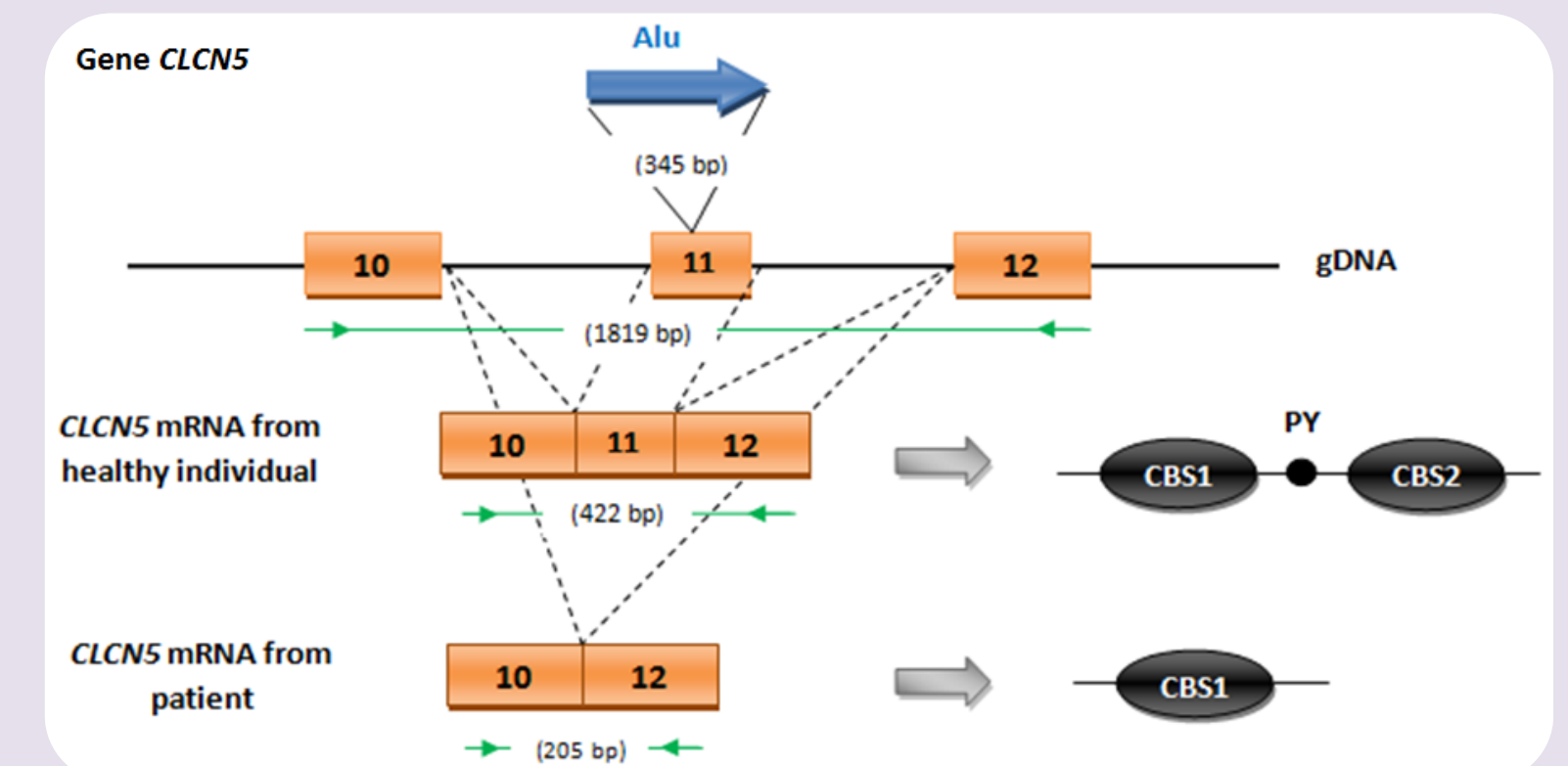


Fig. 7 Efectes inserció Alu. Representació inserció Alu, mRNAs *CLCN5*, i extrem C-term. *CLC-5*.

Adaptació de: Claverie-Martin F. et al. (2005). The Alu insertion in the *CLCN5* gene of a patient with Dent's disease leads to exon 11 skipping. J Hum Genet. 50: 370-374.

Inserció SVA: Distrofia Muscular Congènita tipus Fukuyama

- Autosòmica recessiva
- Presentació clínica:
 - Malformacions del còrtex cerebral
 - Dèficit intel·lectual greu
 - Músculs esquelètics distròfics
 - Anormalitats oculars
 - Dèficit motor
- Mutacions al gen *FKTN* (9q31-q33) → 10 exons
- Fukutina → localitzada a l'aparell de Golgi.
 - Glicosilació de α -dystroglican (α -DG) → ancorar citoesquelet cel·lular amb proteïnes i altres molècules de la matriu extracel·lular.

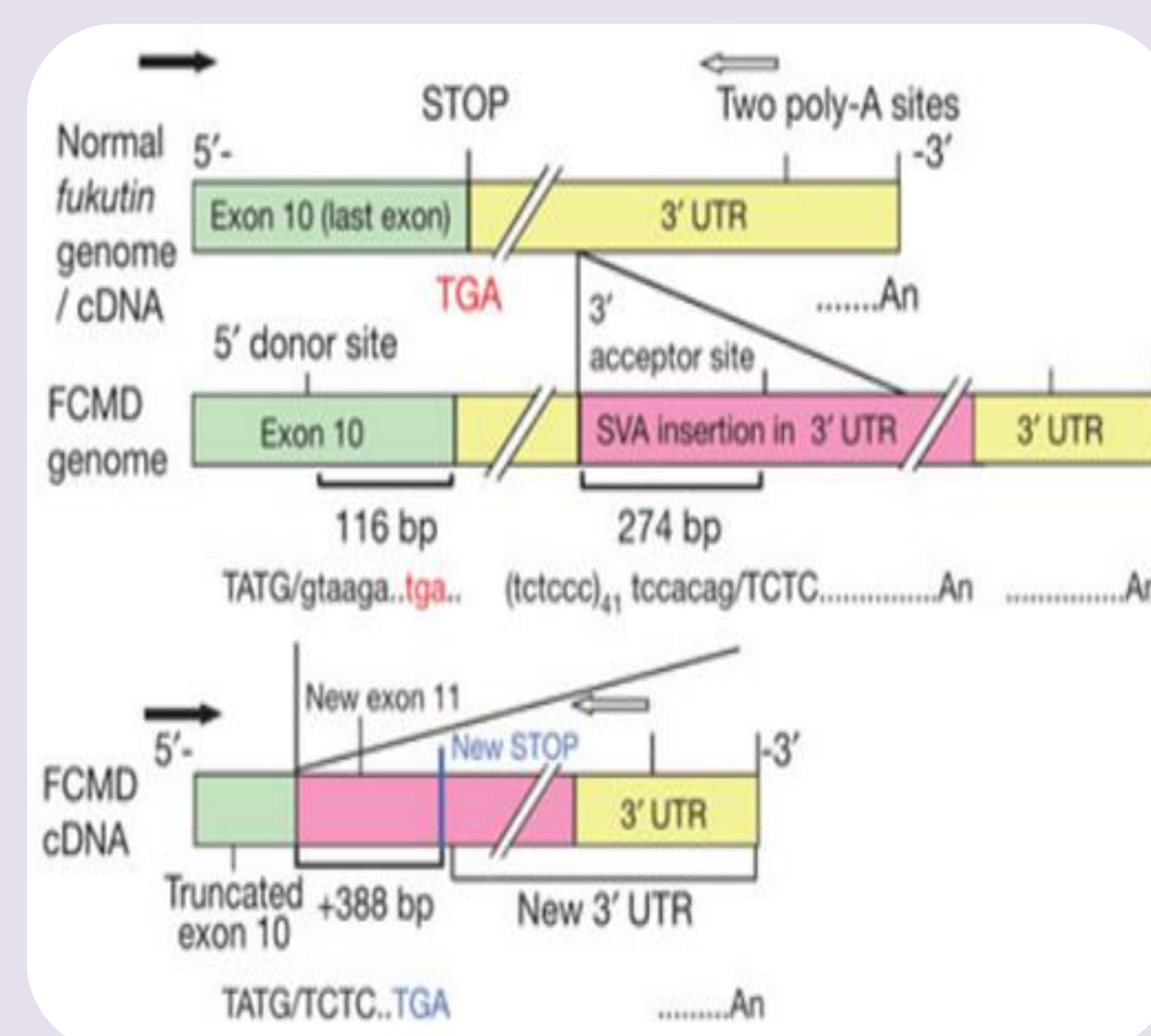


Fig. 8 Efectes inserció SVA a la regió 3'UTR del gen *FKTN*.

Taniguchi-Ikeda M. et al. (2011). Pathogenic exon-trapping by SVA retrotransposon and rescue in Fukuyama muscular dystrophy. Nature. 478, 127-131.

Conclusions

- Impacte evident de l'activitat dels elements transponibles en l'arquitectura del genoma humà.
- Preocupació en relació al paper que desenvolupen els transposons en la salut humana.
- Inquietud + Actual disponibilitat i evolució de tecnologies amb major potencial = Augment de dades associades amb retroelements → Major investigació dels efectes que provoquen i comprensió més detallada de la biologia dels transposons.
- Coneixement actual: casos d'insercions mutagèniques de retrotransposons són aïllats → no motiu d'angoixa per a la salut del conjunt de població humana.
- Sospita per part de certs investigadors que a nivell somàtic aquests elements poden tenir més repercussió de la suposada.

Els elements transponibles presenten efectes beneficiosos a llarg termini per a l'evolució del genoma humà i conseqüentment de l'espècie humana, ja que han participat significativament en aquest procés i l'activitat actual de certs ordres de retrotransposons indica la seva continuïtat; però en un nombre reduït d'ocasions el seu efecte és perjudicial en l'individu amb la contribució a l'aparició de malalties.

Referències:

- Konkel MK. and Batzer MA. (2010). A mobile threat to genome stability: The impact of non-LTR retrotransposons upon the human genome. Semin Cancer Biol. 20(4):211-221.
- Cordaux R. and Batzer MA. (2009). The impact of retrotransposons on human genome evolution. Nature Reviews Genetics. 10, 691-703.
- Balancio VP, Hedges DJ, Deininger P. (2008). Mammalian non-LTR retrotransposons: for better or worse, in sickness and in health. Genome Research. 18:343-358.