

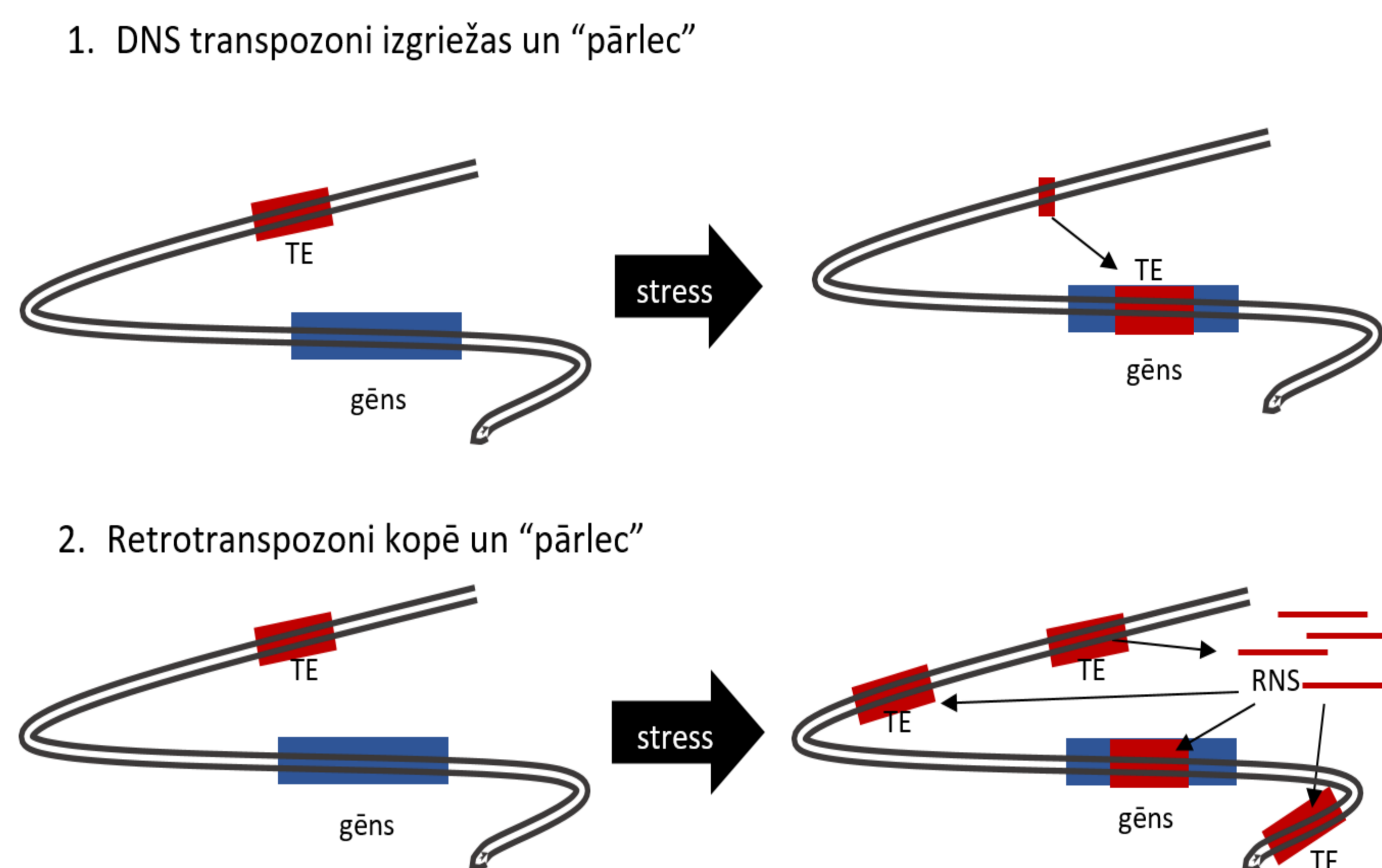
# Kas ir transponējamie elementi un kādēļ tos pēta visā pasaulē?

Priedes genoma pētījums atklāja nozīmīgus transponējamus elementus, kas spēj regulēt gēnu darbību un veidot funkcionāli saistītus gēnu tīklus. LVMI Silava pēcdoktorantūras pētījums skaidro priedes genoma īpašības un pielāgošanās molekulāros mehānismus, piedāvā jaunus risinājumus milzīga izmēra genoma analīzei, bet rezultāti tiks izmantoti slēptās iedzimtības atklāšanai.

Mūsu genomā var atrast ne tikai gēnus, kas nosaka visu proteīnu un zināmo darbīgo molekulu struktūru, bet arī citas struktūras. Pārsteidzoši, taču tā saucamie transponējamie jeb mobilie elementi sastāda līdz pat 80% no visas ģenētiskās informācijas, kamēr izpētīto gēnu procentuālais sastāvs genomā variē 2-4% robežās. Izcilā zinātniece Barbara Makklintoka (Barbara McClintock, att.1.) pirmā atklāja transpozīcijas fenomenu, saistīja to ar kukurūzas graudu krāsojumu un mēģināja skaidrot mobilo elementu funkciju, viedī nosaucot tos par "kontrolējošiem elementiem". Tikai pēc 50 gadiem kopš viņas atklājuma, zinātniskā kopiena atzina viņas pētījumus, 1983. gadā pasniedzot ASV zinātniecei Nobela prēmiju. Pēc DNS<sup>1</sup> ēras uzplaukuma, dažādi mobilie elementi tika atrasti praktiski visos organismos. Tomēr vēl ilgu laiku šo informāciju uzskatīja par nelietderīgu (un pat sauca to par atkritumiem). Kā var saprast no nosaukuma, atšķirībā no konservatīvajiem gēniem, transponējamie elementi spēj pārvietoties jeb lēkāt genomā.

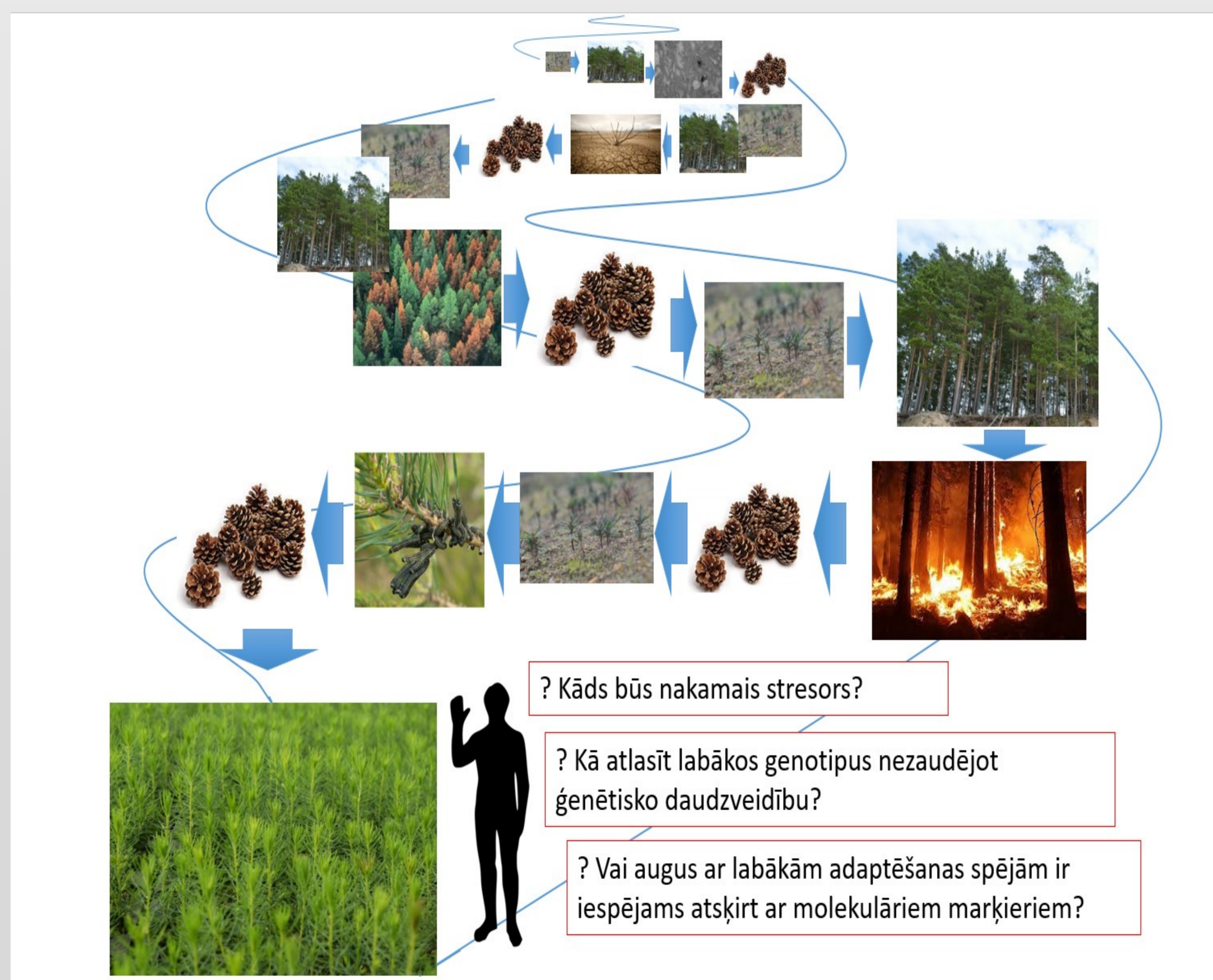


1. attēls. Barbara McClintock, atklāja transpozīciju 1940-1950-tajos gados. Par savu atklājumu 1983. gadā viņa saņēma Nobela prēmiju Fizioloģijā un medicīnā.



2. attēls. Vienkāršotā transpozīcijas shēma.

Šobrīd izdala divas lielas mobilo elementu klases - DNS transpozonus, kas spēj izgriezt savu sekvenci un "ielekt" citā genoma vietā, un retrotranspozonus, kas kopē savu sekvenci ar RNS<sup>2</sup> starpniecību un šī kopija "ielec" citās vietās genomā, strauji pavairojoties (att.2.). Retrotranspozoni ir interesanti ar to, ka tie līdzinās vīrusiem. Analizējot šo līdzību sekvenču līmenī zinātnieki nonāca pie secinājuma, ka vīrusi varētu rasties no retrotranspozoniem. Saskaņā ar šo hipotēzi, retrotranspozoni kādā brīdī ieguva papildus apvalka proteīna gēnu un sāka pastāvīgu vīrusa dzīvi. Citi pētnieki apgalvo, ka vīrusi ievietoja savu ģenētisko informāciju kādā pirmatnējā genomā, zaudējuši apvalka gēnu un vairs nespējami tikt ārā no šūnas, sāka parazitēt tās ietvaros, līdz kādā brīdī tie kļuva noderīgi saimnieka šūnai. Taču droši pierādīt kādu no hipotēzēm vairs nav iespējams, jo vīrusu mainība ir straujāka par šūnu organismu spēju mainīties evolūcijas gaitā. Turklāt, daudzas sugas izzūd laikmetos kopā ar īpašiem gēniem, notiek gēnu pārnese un citi procesi. Uzskata, ka šie abi procesi varēja notikt evolūcijas procesā, taču interesants ir rezultāts. Mūsdienu genomos aktīvie transponējamie elementi tiek ārkārtīgi stingri regulēti, taču mainoties videi vai citiem faktoriem, šie elementi sāk pārvietoties un spēj mainīt gēnu darbību. 2012. gadā zinātnieki no ENCODE projekta [1] publicēja pārsteidzošu informāciju par to, ka 80% no cilvēka genoma tiek aktivizēti un lielākai daļai no genoma ir pagaidām nenoskaidrota funkcionāla nozīme. Šobrīd darbīgās nekodējošās RNS molekulas tiek plaši pētītas visā pasaulē un jau ir zināmas šo molekulu iespējamās funkcijas dzīvajā šūnā, kas tiek saistītas ar epigenētiskiem mehānismiem [2-7]. Zināms arī, ka daudzas nekodējošās RNS molekulas rodas no vairs neaktīviem transponējamiem elementiem.



3. attēls. Stresori, kas apdraud mežus nav paredzami.

Vides apstākļi nepārtraukti mainās, notiek neparedzamas dabas katastrofas, tāpat arī infekciju un kaitēkļu izplatība nav vienmērīga, zināmi piemēri, kad patogēni izplatās jaunās teritorijās klimata izmaiņu dēļ (3. att.). Patreiz ir iespējams atlasīt kokus ar straujāku augšanu, ar mazāku zarainumu un citiem izcilības parametriem, taču izturību vai rezistenci var novērtēt tikai pakļaujot audzi konkrētiem apstākļiem, kas ir darbietilpīgs process. Tāpēc šīs īpašības sauc par slēptu iedzimtību, jo to izpausme raisās noteiktos krīzes apstākļos. Molekulārie marķieri spēj atklāt šo iedzimtību un novērtēt izturības pakāpi, un īpaši perspektīva ir mobilo elementu izpēte.

Ir vairāki iemesli, kādēļ transponējamus elementus ir svarīgi pētīt tieši priedes genomā. Skujkoku genomu raksturīga īpaša stabilitāte un struktūras īpatnības, ko nosaka plašs izplatības areāls, svešappute, garais paaudžu nomainīšanās cikls un labās pielāgošanās spējas vides apstākļiem. Turklāt, priedes genomā transponējamo elementu ir īpaši daudz, un šo atšķirību nav iespējams izskaidrot ar zināmiem procesiem.

<sup>1</sup>DNS- dezoksiribonukleīnskābe, stabila molekula, kas glabā ģenētisko informāciju.

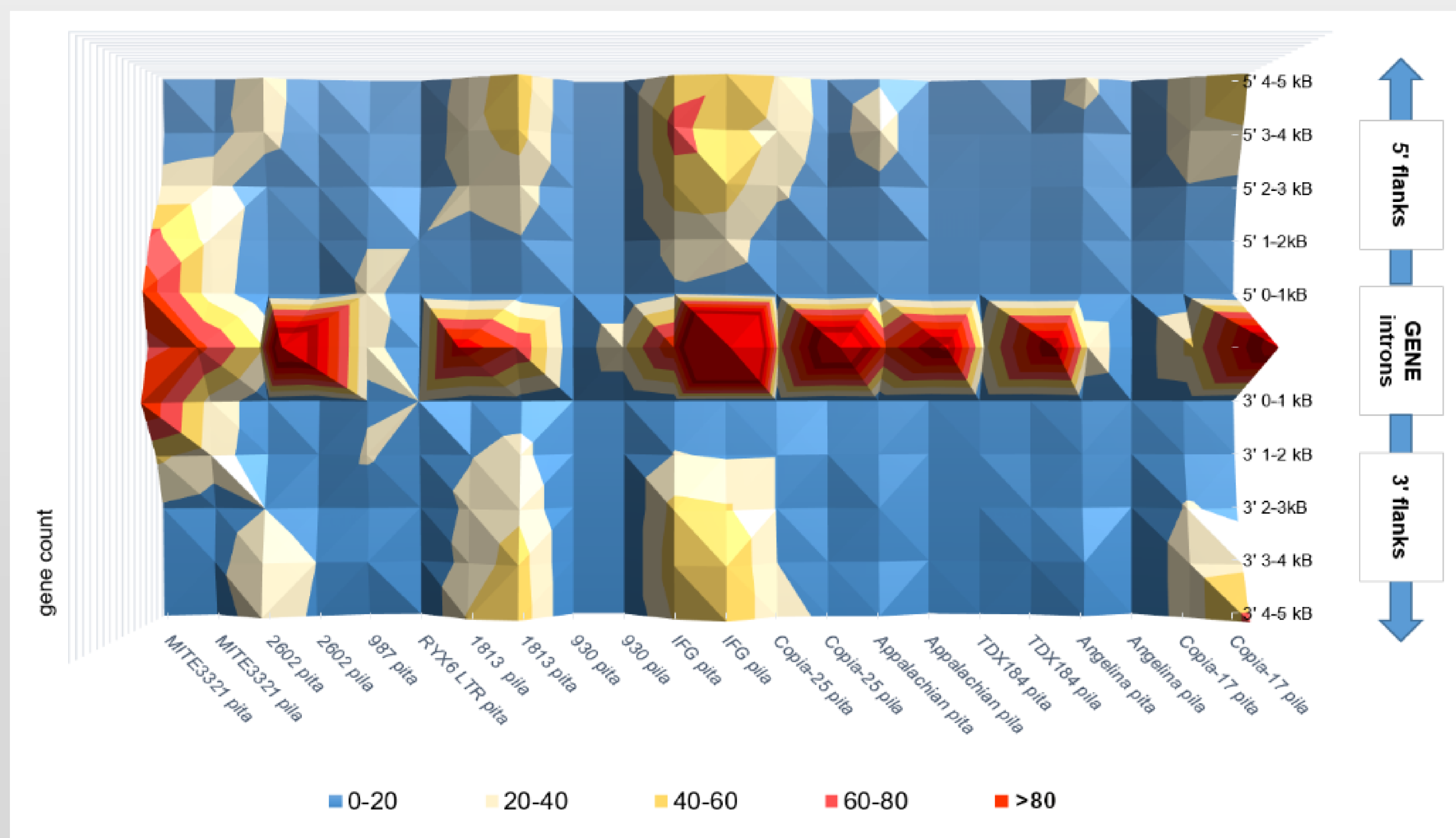
<sup>2</sup>RNS-ribonukleīnskābe, darbības molekula, kas ir mazāk stabila, tās pamatfunkcija ir praktiska informācijas realizēšana darbībā, aktīvā pārnese.



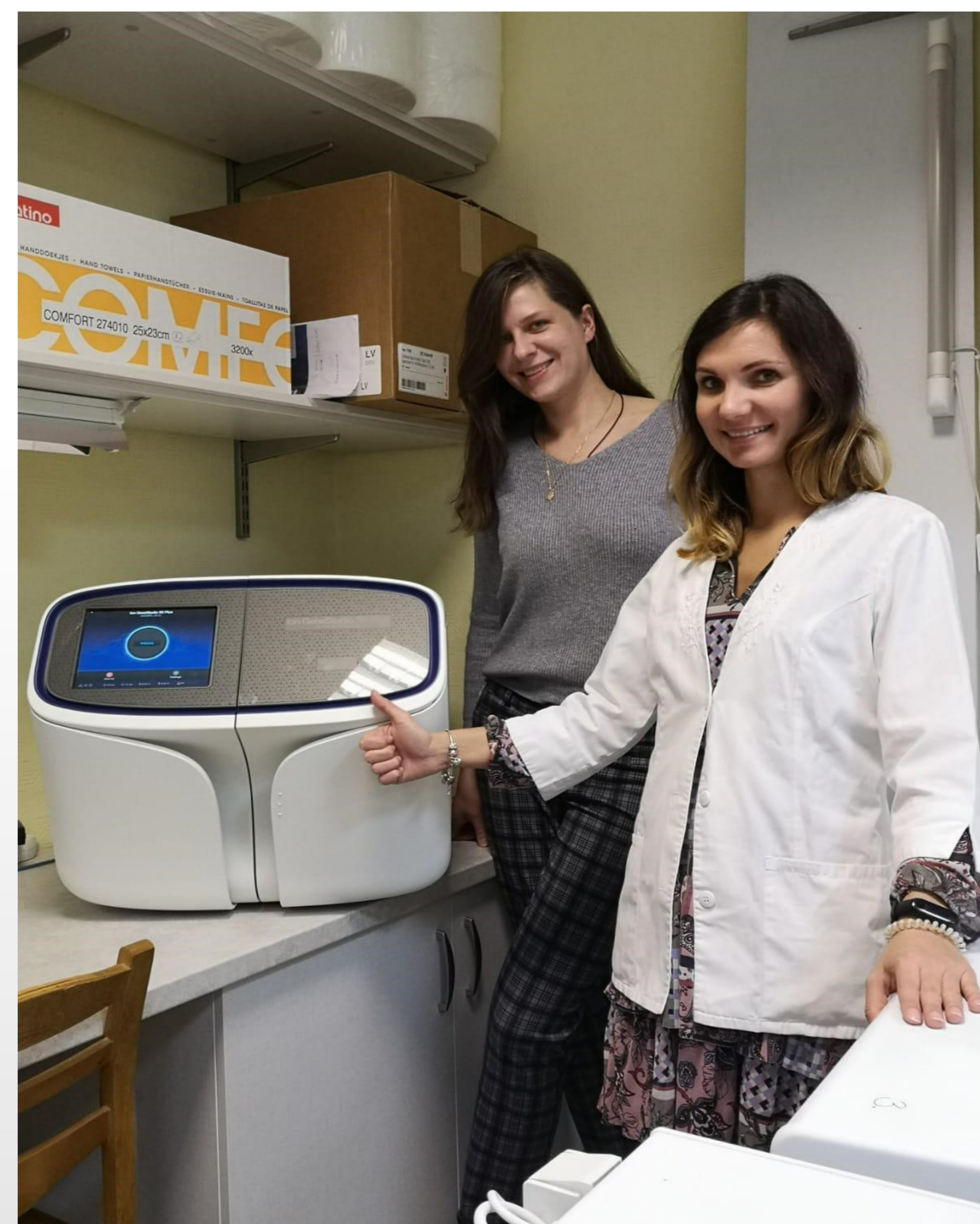
Latvijas Valsts mežzinātnes institūtā “Silava” Dr.biol. Angelika Voronova pēta transponējamos elementus. Pēcdoktorantūras projekts ir manu pētījumu turpinājums, par kura rezultātiem vēlos pastāstīt plašākai sabiedrībai. Esmu pārliecināta, ka par transponējamiem ģenētiskiem elementiem ir jāzin katram cilvēkam, jo tie ir atrodamī arī mūsu genomā. Šīs sekvenču parasti klusē, taču noteikto toksisko vielu iespaidā, vides piesārņojumu dēļ vai pat emocionālo pārdzīvojumu rezultātā transpozoni sāk pārvietoties un šī aktivitāte sākumā var būt nemanāma, bet vēlāk tā spēj mainīt gēnu un tātad arī šūnu darbību. Jau tagad ir zināms, ka ilgstošs stress rada mutācijas un slimības, bet transponējamie elementi ir rīki, ar kuru līdzdalību tas var notikt. Taču pilnīgi visu fiziski veselo cilvēku genomu sastāvā ir transponējamo elementu sekvenču, jo to darbība mūsu labā ir grūtāk manāma [5]. Patreiz jau ir pierādīts, ka mobilie elementi ir svarīgi evolūcijas rīki, kas līdzdarbojās gēnu veidošanās procesā un gēnu regulācijā sarežģītajos organismos, to aktivitāte parādās arī noteiktajos organisma attīstības posmos un audos, tāpēc šie elementi tiek plaši pētīti [2]. Piemēram, transpozoni ir aktīvi smadzenēs un šo aktivitāti zinātnieki saista ar neironālo plasticitāti un spēju veidot šūnu daudzveidību vienā individā, kā arī ietekmēt daudzus procesus [4].

Molekulārās bioloģijas un ģenētikas laboratorijā Dr. Daiņa Ruņģa vadībā Angelikas Voronovas izstrādātā disertācijā aprakstīti izpētes rezultāti, ar kuriem sākās šo elementu izziņa pie mums. Pēcdoktorantūras pētījumā atklāju vairākus mobilos elementus, kas atrodas gēnu tuvumā, jo tieši tiem patreiz ir iespējams atrast to funkcionālo nozīmi [6-7]. Uzdevums izrādījās sarežģīts, jo priedes genoms satur milzīgu informācijas apjomu un genoma datu failus nav iespējams pat atvērt stacionārajā datorā, nerunājot par datu analīzi. Tāpēc sadarbojāties ar Zviedrijas Lauksaimniecības zinātņu universitāti, kur iemācījos analizēt datus, izmantojot augstas kapacitātes skaitļošanas centra iespējas. Atgriežoties Latvijā, sākām sadarboties ar līdzīgu RTU HPC platformu, taču šeit bija nepieciešams instalēt visu nepieciešamo programatūru. Kamēr apguvu jaunas metodes, datus nācās pāranalizēt vairākas reizes. Kārtējo reizi pārbaudot datus, atklāju nozīmīgu kļūdu genoma izejas datus. Protams, nekavējoties informēju ārzemju kolēģus par savu atradumu, taču bija jāizgudro veids, kā pašrocīgi labot šīs kļūdas (genoma anotēšana ir darbietilpīgs process, kur parasti ir iesaistīta liela zinātnieku komanda). Saprotu, ka tāda ir zinātnieku ikdiena un varu lepoties ar to, ka pamanīju tik nozīmīgu kļūdu un palīdzēju to labot.

Turpināju darbu un rezultātā atradām vairākas perspektīvās mobilo elementu klases, kas ar augstu ticamības pakāpi biežāk atrodas gēnu tuvumā. Viens no atklātiem elementiem ir īss MITE elements, kurš ir atrodamas abu priekšu sugu gēnu tuvumā un satur nozīmīgus regulatīvos motīvus. Intrigējošs atradums ir šī elementa lokalizācijas īpatnības, kas liek domāt par regulatīvo tīklu veidošanos. Stresa situācijā augam ir svarīgi ātri pārslēgties, pārtraucot ar attīstību un augšanu saistītus procesus un sākt cīņu par izdzīvošanu nelabvēlīgos apstākļos, piemēram, veidojot papildus receptorus un uzturot homeostāzi. Mēs parādām, kādā veidā MITE transpozons varētu veicināt vienas kopas gēnu darbības apturēšanu un tai pašā laikā aktivizēt stresa atbildes gēnu darbību. Cits atklātais DNS transpozons satur mikro RNS piesaistes motīvu, kā arī iespējamus pre-mikro RNS veidojošās sekvenču. Šis elements ir izplatīts nozīmīgos, ar stresu saistītajos gēnos, noteiktos rajonos. Atradām arī garākus retrotranspozonus ar svarīgiem gaismas atbildes motīviem. Veicot datu meta analīzi, pārbaudīju arī transpozonu kombinācijas jeb rakstus dažādiem gēniem. Atklājām, ka gēni ar vienādu transpozonu rakstu jeb genotipu ir iesaistīti līdzīgos, pietiekami specifiskos procesos. Tāpat, analizēju tādus gēnus, kas intronos satur ļoti daudz mobilo elementu. Šo gēnu funkcija parasti ir ļoti plaša, šie gēni ir iesaistīti daudzos svarīgos procesos, veidojot atbildi uz stresu. Augu gēni, kas satur milzīgus intronus, salīdzinoši viegli aktivizējas, un to atbilde ir intensīva. Iemesls garo nekodējošo sekvenču uzturēšanai augu gēniem nav līdz galam noskaidrots. Tāpat, augu genomos gēni netiek tik izteikti organizēti funkcionālajās grupās, un, iespējams, nekodējošās sekvenču palīdz sakārtot un saskaņot to darbību dažādos apstākļos, ar ko varētu tikt izskaidrota plaša transponējamo elementu izplatība un augu plasticitāte.



4. attēls: Mobilo elementu izplatība priedes gēnu tuvumā.



5. attēls. no kreisās: IonTorrent Ion GeneStudio S5 (Thermo Fisher Scientific) sekvenču aparāts, ar kura palīdzību tika izstrādāta jauna metode, pētniece Dr. Angelika Voronova, produktu speciāliste Dr. Rita Bandariavičiūtē.

#### Literatūras saraksts:

- [1] The ENCODE Project Consortium *Nature* **489**, 57–74 (2012).
- [2] Feschotte C. (2008). Transposable elements and the evolution of regulatory networks. *Nature reviews. Genetics*, *9*(5), 397–405. <https://doi.org/10.1038/nrg2337>
- [3] Bourque, G., Burns, K.H., Gehring, M. *et al.* Ten things you should know about transposable elements. *Genome Biol* **19**, 199 (2018). <https://doi.org/10.1186/s13059-018-1577-z>
- [4] Reilly, M. T., Faulkner, G. J., Dubnau, J., Ponomarev, I., & Gage, F. H. (2013). The role of transposable elements in health and diseases of the central nervous system. *The Journal of neuroscience : the official journal of the Society for Neuroscience*, *33*(45), 17577–17586. <https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3369-13.2013>
- [5] Cao, X., Zhang, Y., Payer, L.M. *et al.* Polymorphic mobile element insertions contribute to gene expression and alternative splicing in human tissues. *Genome Biol* **21**, 185 (2020). <https://doi.org/10.1186/s13059-020-02101-4>
- [6] Voronova A., Rendón-Anaya M., Ingvarsson P., Kalendar R., Ruņģis D. (2020) Comparative study of pine reference genomes reveals transposable element interconnected gene networks. *Genes* (in review). Doi: [10.21203/rs.3.rs-34803/v3](https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-34803/v3).
- [7] Voronova, A., 2019. Retrotransposon expression in response to in vitro inoculation with two fungal pathogens of Scots pine (*Pinus sylvestris* L.). *BMC Research Notes* **12**: 243.

