

BÖLÜM 11

YENİ KEŞFEDİLEN FONKSİYONLARIYLA HAREKETLİ DNA ELEMANLARI: TRANSPOZONLAR

Asuman ÖZGÖZ¹

GİRİŞ

Transpozonlar veya transposable elemanlar (TE'ler), genomda yeni bölgelere entegre olma yeteneğine sahip tekrarlayan mobil genomik dizilerdir. Barbara McClintock (1950) tarafından atlayan genler olarak keşfedildikten sonra, genomun yapısı, işlevi ve evrimi üzerinde TE'lerin etkisi ile ilgili çeşitli çalışmalar ortaya konmuştur. Transpozonlar, bitkiler ve hayvanlar da dahil olmak üzere tüm organizmalarda yaygındır (1) ve insan genomunun ~%45-50'sini oluştururlar (2, 3).

Transpozisyon adı verilen atlama mekanizmasına dayanarak, transpozonlar genel olarak retrotranspozonlar ve DNA transpozonları olmak üzere iki ana sınıfa ayrılırlar. Retroelemanlar veya Sınıf I TE'ler olarak da adlandırılan retrotranspozonlar, “kopyala ve yapıştır” mekanizmasını kullanarak ters kopyalanmış RNA'lar yoluyla genom boyunca hareket ederler. Sınıf II TE'ler veya DNA transpozonları, çoğunlukla “kes-yapıştır” mekanizmasıyla, DNA segmentleri olarak genom boyunca özerk bir şekilde hareket ederler (1, 4).

Her iki sınıf da kendi içinde alt bölümlere ve transpozisyon mekanizması, sekans ve/veya yapısal benzerlikleriyle ilişkili olarak ailelere sınıflandırılmışlardır. Pek çok otonom-olmayan TE'ler kendi kendilerine genomda başka bir yere hareket gerçekleştiremezler ve insersiyon için otonom bir TE olan bir yardımcı eleman tarafından kodlanan enzim(ler)e bağımlıdırlar (5).

Birçok türün genomları, tekrarlayan mobil dizilerle doludur (6). İnsan genomunda bulunan Sınıf I elemanlar, Uzun Terminal Tekrarlar (LTR) ve LTR olmayan elemanlar olmak üzere iki gruba ayrılırlar; LTR olmayanlar büyük ölçüde bas-kındırlar. LTR olmayan transpozonlar, uzun serpiştirilmiş elemanlar (LINE'ler) ve kısa serpiştirilmiş nükleer elemanlar (Alu elemanları dahil SINE'ler), birlikte insan genomunun yaklaşık %27'sini oluştururlar (7). LINE-1 (L1) öğeleri insan genomunun bilinen tek otonom olarak aktif retrotranspozonlarıdır. SINE'ler otonom değildir ve LTR olmayan diğer bir sınıf olan SINE-VNTR Alu elemanları

¹ Dr. Öğr. Üyesi, Kastamonu Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Genetik AD., aozgoz@kastamonu.edu.tr

(SVA'lar) gibi, retrotranspozisyonlarını kolaylaştıran L1 proteinlerine ihtiyaç duyarlar (8,9). İnsanlarda bulunan diğer SINE'ler MIR ve MIR3 elemanlarıdır (10, 11).

Sınıf I TE'lerin diğer üyesi, LTR elemanları yapılarının başlıcası, mobilite mekanizmaları açısından retrovirüslere benzeyen ancak hücre içindeki varlıklarını devam ettirmeyi sağlayan fonksiyonel zarf (envelope) genleri olmayan endojen retrovirüs (ERV)'lerdir (HERV'ler: HERV-I, HERV-K, HERV-L) (12, 13). ERV'ler insan genomunun yaklaşık %8'ini oluştururlar ve milyonlarca yıl önce germline entegrasyonu gerçekleşmiş ekzojen retrovirüslerin kalıntılarıdır (6).

İnsan genomundaki ana Sınıf II elemanlar veya DNA transpozonları tüm genomun %2.8'ini oluşturacak şekilde, insan genomunda küçük miktarlarda bulunurlar. TC-1/mariner süperalesi (mariner, MER2-Tigger, Tc2 gibi), hAT süperalesi (MER 1-Charlie, Zaphod gibi) ve bazı PiggyBac benzeri elemanları içerirler (10).

Normal gelişim sırasında, transkripsiyonel düzenleme ve TE'lerin ifadesi sıkı bir şekilde kontrol edilir. ERV'ler embriyonik kök hücrelerde (ESC'ler) yüksek seviyelerde eksprese edilebilir, ancak farklılaşmasını tamamlamış hücrelerde DNA metilasyonu ve baskılayıcı histon modifikasyonları tarafından susturulurlar (14). LINE ve SINE elemanları DNA metilasyonu, histon modifikasyonları ve RNA aracılı sessizleştirme ile benzer şekilde susturulurlar (15).

Global epigenetik düzensizliğin bir parçası olarak hücrelerin normalden kansere dönüşümünü sırasında, hem LTR hem de LTR olmayan elemanlar epigenetik sessizliğini kaybedebilir ve transkribe edilebilirler ve hatta bazen aktif hale gelebilirler (16).

LncRNA FONKSİYONUNUN YENİ BİR PARADİGMASI OLARAK TRANSPOZONLAR

Çoğu hücrede, TE'ler heterokromatin içinde sessizleştirilme eğilimindedir, ancak spermatogenez sırasında geniş çapta erişilebilir hale gelirler. TE ekspresyon ürünlerinin ve aktivitelerinin çoğu, TE'lerin kendisinden türetilen kodlamayan RNA (ncRNA)'lar tarafından baskılanmaktadır (17). İnsan uzun kodlamayan RNA (lncRNA)'larının 2/3'ünün TE dizisi içerdiği göz önüne alındığında, lncRNA'ların genomdaki toplam TE dizi içeriğine ortalama %30 katkıda bulunduğu tahmin edilmektedir; dolayısıyla bu kontrolün çoğunun lncRNA'lar tarafından gerçekleştirilmesi muhtemeldir (18). Bu dizilerin çoğu 'etkin olmayan' TE veya TE kalıntıları kaynaklıdır. Böylece, aktif olmayan TE kalıntıları bile DNA yeniden düzenlemelerinde önemli bir rol oynayabilmektedir (19).

TE seviyeleri ile satellite dizilerinin sessizleştirilmesi ve ekspresyon zamanının kontrolü, yeniden düzenlemeler ve/veya transpozisyon arasında pek çok organizmada olduğu bildirilen hassas bir denge mevcutsa, bu olayların bazıları doğrudan veya dolaylı olarak, komşu lncRNA dizilerinin ekspresyonuna sebep olabilirler (20). Gerçekten de, lncRNA genlerinin upstream bölgeleri, TE'ler açısından oldukça zengindir ve bunların çoğunun, yakınlarındaki lncRNA'ları düzenlediği gösterilmiştir (18). TE'lerin strese adaptasyonun düzenlenmesinde de etkili olması muhtemeldir, çünkü birçok TE, ısı şoku maruziyeti süresince eksprese edilmektedir ve farklı ortamlarda bulunma gibi diğer stres adaptasyonlarına verilen cevaba katkıda buldukları bilinmektedir (20).

TE'lerin bir kısmı, lncRNA'nın lokalizasyonunu, stabilitesini, splicingini, transkripsiyonunu ve lncRNA'nın diğer transkriptlerin, özellikle de mRNA'ların metabolizmasını düzenleme kapasitesini etkilemek için cis veya trans olarak hareket etme potansiyeline sahiptir (21-23). lncRNA'ların %83'ü, lncRNA dizilerinin %42'sini oluşturan TE'leri içerirken, protein kodlayan genlerin yalnızca %6.2'si TE'leri içerir ve bu da toplam nükleotidlerin yalnızca %0.32'sini oluşturur (24).

TE'lerin lncRNA bileşimine bu büyük katkısı, muhtemelen lncRNA'ların evrimsel olarak daha kolay işlenebilir olmaları gerçeğinden kaynaklanmaktadır, çünkü TE dizileri genom boyunca birçok kopyasında yüksek dizi homolojisi barındırması nedeniyle TE aracılı transpozisyon veya rekombinasyon yoluyla gerçekleşen insersiyon veya delesyonu tolere edebilmektedir. Buna karşılık, protein kodlayan genlerin bu tür mutasyonlar nedeniyle fonksiyon kaybına uğraması daha olasıdır (25).

Kanser etiolojisinde TE'lerin, lncRNA'ların fonksiyonel domainlerinde yer alarak, onların hem cis hem de trans düzenleyiciler olarak etki etmesine aracı olduğunu destekleyen önemli kanıtlar vardır. TE aracılı lncRNA metabolizmasının düzenlenmesi ve kanser gelişimini etkileyebilecek hem cis hem de trans şekillerde gerçekleşen fonksiyonlar aşağıda yer almaktadır:

- A. TE'ler RNA-bağlayan protein (RBP) kompleksleri için bağlanma bölgeleri olarak işlev göerek lncRNA lokalizasyonu ve stabilitesini modüle edebilirler (3).
- B. TE'ler, lncRNA stabilitesini kontrol etmek için lncRNA'lar üzerinde miRNA bağlanma bölgeleri olarak fonksiyon gösterebilirler ve mikroRNA (miRNA)'ları diğer transkriptlerdeki aktif bağlanma bölgelerinden ayırabilirler.
- C. TE'ler, öncü-lncRNA'ların matürasyonunu düzenlemek için HNRNPC gibi splicing regülatörleri tarafından tanınabilen splice-bölgeleri olarak fonksiyon gösterebilirler.

- E. TE'ler, lncRNA transkripsiyonunu düzenlemek için transkripsiyon faktörü bağlama bölgelerinin oluşumunu teşvik ederler (3).
- F. TE'ler, lncRNA'nın kısmi tamamlayıcı baz eşleşmesi yoluyla mRNA'ya bağlanmasına, STAU1 aracılı bozunma (staufen mediated decay = SMD)'yi harekete geçirmek yoluyla aracılık ederler. Bir dizi lncRNA'lar, hedef mRNA'ların 3'UTR bölgelerinde TE olan Alu elemanları aracılığıyla kısmi baz eşleşmesi oluştururlar ve bu baz eşleşmesi de Staufen (STAU1)-bağlama bölgelerinin (SBS'ler) oluşumuyla sonuçlanır. STAU1, intramoleküler veya intermoleküler çift sarmallı RNA (dsRNA)'lara bağlanan dsRNA bağlayıcı proteindir. Böylelikle SDM yoluyla mRNA degradasyonu gerçekleştirilir (3).
- G. TE'ler, antisens lncRNA'nın sens mRNA'nın translasyonunu teşvik etme yeteneğine aracılık ederler.
- H. TE'ler ayrıca mRNA transkripsiyonunun düzenlenmesine lncRNA'nın kromatin yeniden modellenme faktörlerinin belirli gen lokuslarının promotör bölgelerine bağlanmasını sağlayarak dsDNA-RNA triplekslerinin oluşumu yoluyla aracılık edebilirler. (I) lncRNA'ya yerleşik TE'ler, RBP'lerin lokalizasyonunu, kümelenmesini/katlanmasını ve işlevini yönlendirebilirler (3).

miRNA KAYNAĞI OLARAK TRAN스포ZONLAR

TE'ler, birçok insan dokusunda yüksek seviyelerde dinamik olarak eksprese edilirler, ancak TE'den türetilen transkriptlerin işlevi büyük ölçüde bilinmemektedir. TE'ler, lncRNA'lar gibi, miRNA'ların da kaynağı olabilmektedirler. Yapılan bir çalışmada, insan beyin dokusunda çok sayıda TE'den türetilmiş miRNA'lar belirlenmiştir. Bu miRNA'ların çoğu, yaklaşık 100-300 milyon yıl önce insan genomuna giren LINE-2 (L2) elemanlarından kaynaklanmaktadır. L2 konsensüs dizisinin 3' ucundan türetilen ve dolayısıyla çok benzer dizileri paylaşan L2-miRNA'ların, 3'UTR'lerinde L2'leri bulunan transkriptleri hedefleyebileceği düşünülmüştür. Buna paralel olarak, birçok protein kodlayan gen, 3'UTR'lerinde L2'den türetilen dizilerin parçalarını taşımakta ve bu diziler de, L2-miRNA'lar için hedef bölgeler olarak görev yapmaktadır. L2-miRNA'lar ve hedefleri genellikle birden fazla insan dokusunda düşük seviyelerde yaygın olarak eksprese edilmektedir, bu da L2-miRNA'ların housekeeping genlerin transkripsiyonel seviyelerini tamponlamada bir rolü olduğunu düşündürmektedir (26).

Yapılan diğer çalışmalar, LINE (ör. LINE-1, LINE-2, LINE-3), SINE (ör. MIR ve Alu) ve bazı LTR transpozonlarının miRNA kaynakları olarak işlev görebileceğini göstermiştir (27-29). miR-28, miR-95 ve miR-151, LINE-2 (L2) dizilerinden türetilen fonksiyonel olarak doğrulanmış miRNA'ların örnekleridir (30-32).

TE'lerin bazı miRNA'ların kökeni ve bazı miRNA'ların hedefleri için doğal bir mekanizma sağladığı iddia edilmiştir. Örneğin mir-28, mir-95 ve mir-151, LINE-2 TE'lerden derivedir. TE'lerin Alu elemanları, neredeyse 30 insan miRNA'sının hedef dizileridir (33). hsa-mir-566'nın Alu'dan türediği ve tahmin edilen hedef bölgelerinin %80'inin TE'lerden türediği ve Alu elemanı ile ilgili olduğu düşünülmüştür (28). Bununla birlikte, hangi miRNA'ların insanlardaki hangi TE'lerden ve nasıl kaynaklandığı büyük ölçüde bilinmemektedir. miRNA'ların yaklaşık %19.84'ü insandaki TE dizileri ile tamamen veya kısmen örtüşmektedir, ancak diğer miRNA'ların kökeni çok net bilinmemektedir(33).

Dört TE sınıfı (SINE, LINE, LTR ve DNA), üç tip (Tip I-III) TE'den derive miRNA (MDTE) için kaynaklık etmektedir. İnsanda, SINE'ler, LINE'lar, LTR retropozonları ve DNA transpozon kopyaları genom dizilerinin sırasıyla, %13'ünü, %20'sini, %8'ini ve %3'ünü oluştururlar (bir bütün olarak dört TE'nin oranları: SINE: %29,55; LINE: %45,45; LTR: % 18.18; DNA: %6.82'dir) (10). SINE ve LINE (%39.47 ve %44.74 ile), Tip I (invert TE sekanslarından derive olanlar) MDTE'lere en çok katkıda bulunanlardır. Tip II (invert olmayan fakat kısmen TE'lerden derive olanlar) MDTE'lerin büyük kısmı LINE, DNA ve SINE'den (%33.14, %29.14 ve %24.01) oluşur. Tip III (tamamen TE'lerden derive olanlar) MDTE'lerde, DNA ve SINE ana kaynaklarken (DNA:%35.20, SINE:%28.00), LTR ve LINE ise sırasıyla %19.2 ve %17.6'yı oluşturur (33).

TELOMER BİYOLOJİSİNDE TRANSPOZONLAR

Telomer homeostazının altında yatan moleküler mekanizmalar, genom biyolojisinde ilgi çeken konulardır. Paradoksal olarak, telomeraz ve telomer araştırmalarının çoğu, telomeraz upregülasyonu ile karakterize somatik kanser hücreleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Memelilerde telomerazın in vivo olarak sadece germline, embriyonik kök hücreler, zigot ve erken embriyo gibi birkaç hücre tipinde oldukça aktif olduğu iyi bilinmektedir. Bununla birlikte, normal dokulardaki ve gelişim sırasındaki telomer regülasyonu hakkında çok az şey bilinmektedir (34).

Telomeraz ve retrotranspozonların evrimsel ilişkisinin, telomeraz ve transpozon düzenlemesinde bir benzerliğe işaret ettiği tahmin edilmektedir. Bu nedenle, transpozon kontrol mekanizmasının telomer işlevindeki rolünün, telomer biyolojisinde bir araştırma odağı haline gelmesi olası görünmektedir (34).

Yapılan bir çalışmayla insanda LINE-1 retroelemanlarının knockdownunun kanser hücrelerinde telomer disfonksiyonu ve azalmış telomeraz aktivitesine yol açtığı belirlenmiştir. Böylece, retrotranspozonlar ve telomeraza dayanan telomer işlevi arasında, telomer düzenlemesinde L1 elemanları için yeni bir rolün keş-

fedilmesiyle birlikte beklenmedik bir bağlantı ortaya çıkmıştır (35). L1'in aşırı ekspresyonu, genel olarak insan malignitelerinde gerçekleşmektedir (36) ve L1'lerin telomeraz pozitif tümör hücrelerinde telomer korunumu için kritik olduğu gösterilmiştir (35). L1-knockdown (KD) kullanıldığında, kanser hücrelerinde telomer disfonksiyonuyla birlikte, telomeraz ve shelterin (telozom) proteinlerinin ekspresyonunun azaldığı gözlenmiştir (34, 35).

L1-KD, telomeraz ekspresyonu için iki ana transkripsiyon faktörü olan cMyc ve KLF-4'ün düşük seviyeleri ile korelasyon göstermiştir, ancak bu düzenlemenin mekanizması bilinmemektedir. L1'in normal hücrelerde telomerazı düzenleyip düzenlemediği ise hala belirsizdir. L1'lerin ekspresyonu, memelilerde germline olarak piRNA'lar tarafından kontrol edilir (37), ancak telomerik tekrarlarla komplementer piRNA'lar bildirilmemiştir. Bu veriler, piRNA yolağının veya diğer transpozon susturma mekanizmalarının, memeli germ hücrelerinde ve kök hücrelerde L1 ekspresyonunun düzenlenmesi yoluyla telomer fonksiyonunu dolaylı olarak etkileyebileceği konusunda merak uyandıran bir olasılık sunmaktadır (34).

KANSER BİYOGENEZİNDE CRISPR/CAS 9 UYGULAMALARI VE TRANSPOZONLAR

Transpozonlar, insersiyonel mutagenез için güçlü araçlar olarak hizmet etmektedirler. Son on yılda, araştırmacılar tarafından, insan kanserinin patogeneze katılan klinik anlamda önemli olan genleri tanımlamak için isteğe bağlı olarak oluşturulmuş transpozon aracılı mutagenезi bulunan fare modelleri kullanılmıştır. İki farklı DNA transpozon mutagenез sistemi, Uyuyan Güzel (SB) ve Piggy-Bac (PB), in vivo ve daha yakın zamanda ex vivo ortamlarda kapsamlı bir şekilde uygulanmıştır. Bu çalışmalar, kanserin başlamasını, ilerlemesini ve metastazı yönlendiren genler ve yolakları anlamaya katkıda bulunmuştur. Belirli kanser alt tipleri için ilgili genlerin tanımlanmasında yeni teknolojik gelişmeler ve CRISPR/Cas9 kullanılmıştır (38).

Solucanlar, sinekler ve farelerdeki insersiyonel mutagenез taramaları, kritik sinyal yolu bileşenlerinin tanımlanmasını sağlamıştır (39, 40). Balıktan bir Tc1/mariner DNA transpozonunun moleküler rekonstrüksiyonu, in vivo genom mühendisliği için yeni fırsatlar ortaya çıkarmıştır. Uyuyan Güzel (SB) olarak adlandırılan bu yeniden uyandırılmış eleman, memeli hücrelerinde mobilize edilen ilk sentetik transpozon olmuştur (41, 42). Bu sayede, farelerde germline ve somatik mutagenез başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir (38).

Lahana lüper güvesinden kaynaklanan başka bir DNA transpozonu olan PiggyBac'ın (PB) daha sonra memeli hücrelerinde aktif olabileceği gösterilmiş ve in vivo somatik mutagenез için kullanılmıştır (43, 44). SB ve PB sistemleri, mu-

tajenik bir gen tuzak elemanı barındıran mühendislik ürünü bir transpozon ve transpozaz olarak adlandırılan bir enzim olmak üzere iki bileşen kullanılmaktadır. Her iki bileşen de aynı hücrede mevcut olduğunda, transpozaz, inverted tekrar/doğrudan tekrar dizilerini bağlamakta ve transpozonun mobilizasyonunu katalize etmektedir (38).

İn vivo çalışmalar yapmak ve transpozon mobilizasyonunu indüklemek için bağımsız transgenik fare soyları yetiştirilmiştir. Gen tuzağı barındıran transpozonun yeni bir genomik konuma yerleştirilmesi, oryantasyonu ve konumuna bağlı olarak, yeni fonksiyon kazandıran veya fonksiyon kaybettiren mutasyonlara sebep olarak gen işleyişini bozmaktadır. Biyoinformatik analiz, tesadüfen tespit edilen transpozon insersiyonlarından daha fazlasının keşfedilmesine olanak sağlayacak şekilde, yaygın yerleşim bölgelerinin (CIS'ler) belirlenmesine katkı sunmuş, böylece işlevleri değiştiğinde tümör oluşumunu hızlandıran genleri ortaya çıkartmıştır (38).

Dikkat çekici bir şekilde, farelerde transpozon mutagenезinden kaynaklanan tümörler, insan kanserlerinin anatomik ve histolojik özelliklerini doğru bir şekilde modellemektedir. Rosa26 lokusunda nakavt edilmiş bir SB transpozazın kullanıldığı mutagenез taramaları, hematopoietik kanserleri ve sarkomları ileten genleri belirlemiştir (45,46). Bunu, dokuya özgü fare hücreleri kullanılarak SB transpozazın dokulardaki ekspresyonunun sağlandığı karaciğer ve gastrointestinal sistem taramaları izlemiştir (47,48). Son yıllarda melanom, nörofibrom, medulloblastom, meme, prostat ve tiroid kanserleri gibi birçok tümör tipi için taramalar yapılmıştır. Transpozon mobilizasyonunun tek başına veya genetik yakınlıkla işbirliği içinde tümörjenezini desteklediği gösterilmiştir (38).

KANSER/PATOLOJİK GEN ADAYLARINI TARAMA ARAÇLARI OLARAK TRANSPOZONLAR

Hayvan modelleri ve genetik mühendislik metodlarıyla uygulanan TE'ler (her ikisi de Sınıf II DNA transpozonları olan Uyuyan Güzel ve PiggyBac), TE'lerin kanser başlangıcındaki nedensel rolünü gösterebilmek için kullanılmış ve bu uygulama TE insersiyonunun kansere yol açabileceğini göstermiştir (49). HRAS, c-Myc ve shp53 (tümör supresör p53'ü hedef alan kısa saç tokası (hairpin) RNA)'ü barındıran Uyuyan Güzel transpozon sisteminin fare derisinde sarkomatoid karzinomları indüklediği gösterilmiştir (50). CUX1 (cut like homeobox 1)'in bir tümör supresör olarak tanımlanması ve doğrulanması, yakın zamanda farelerde transpozon aracılı insersiyon mutagenезi ve Drosophila kanser modelleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Mutagenез taraması, birçok yerleşik onkogen, tümör supresör ve hücre sinyal yollarında yer alan genler ve çeşitli katı tümörlerde,

melanom dışı cilt kanserinde, kolorektal kanserde, gliomada ve pankreas adenokarsinomunda yeni aday genlerin (örn. Diaçil gliserol kinaz, N(alfa)-asetiltransferaz, ZNF292, vb.) tanımlanmasını sağlamıştır (49).

TRANSPOZON POLİMORFİZMLERİ

TE'den türetilen diziler, promotörler, enhancerlar, transkripsiyon terminatörleri ve çeşitli küçük RNA sınıfları dahil olmak üzere insan genomuna çok çeşitli düzenleyici elemanlar sağlamaktadır. İnsanda TE'den türetilen diziler ayrıca genom boyunca kromatin yapısını şekillendirerek gen regülasyonu üzerinde etkiler gösterebilirler. Bu zamana kadar, insan TE düzenleyici elemanları üzerindeki hemen hemen tüm çalışmalar, nispeten eski insersiyonların kalıntıları olan ve artık aktarma yeteneği olmayan TE'den türetilen dizilere odaklanmıştır. Buna göre, bilinen insan TE düzenleyici dizileri, büyük ölçüde, tüm insanların genomları içinde aynı genomik yerleşim konumlarında bulunan "sabit" TE insersiyonlarına karşılık gelmektedir (51). Bu ayırım kritiktir, çünkü sabit TE insersiyonlarının bireyler arasında düzenleyici varyasyona katkıda bulunması beklenmez. Başka bir deyişle, sabit TE düzenleyici elemanlar, işlevsel olarak önemli olmakla birlikte, insan popülasyonunun genetik varyasyonu için bir kaynak sağlamazlar. Son birkaç yılda, genom destekli teknolojilerin bir araya gelmesi, doğrudan insan TE'lerinin devam eden aktiviteleri tarafından üretilen yapısal varyasyonlara odaklanan çalışmaları güçlendirmeye başlamıştır. Öncelikli olarak Alu (52,53), L1 (54,55) ve SVA (56,57) olmak üzere transpoze olma yeteneğini koruyan birkaç insan TE ailesi vardır.

Daha az sayıda olmak kaydıyla HERV-K endojen retrovirüsler de insan genomunda aktif kalırlar (58). Bu TE ailelerinin üyeleri insan genomu içinde transpoze olduğunda, popülasyonlar içinde ve popülasyonlar arasında TE insersiyon bölgesi polimorfizmleri şeklinde ayrılan bireyler arası varyasyonlar üretirler. İnsan TE'lerinin bilinen düzenleyici özellikleri göz önüne alındığında, ayrı TE polimorfizmlerinin önemli düzenleyici sonuçlara sahip olabileceğini beklemek mantıksız değildir. Özellikle, bazı insan TE polimorfizmleri, bireyler arasında gen ekspresyon modellerinde farklılıklara yol açabilirler. Ayrıca, son TE aktivitesi tarafından üretilen düzenleyici varyasyonun sağlık ve hastalık için önemli etkileri olabilir (51).

Yapılan bir çalışmada, B hücresine özgü transkripsiyon faktörü PAX5 için, gözlenen çok sayıda trans TE-eQTL'yi açıklayabilecek potansiyel bir mekanizma ortaya çıkarılmıştır. Çalışmada insan TE polimorfizmlerinin analizi için ekspresyon kantitatif özellik lokusları (eQTL) analitik paradigması kullanılmıştır; eQTL, gen ekspresyon seviyelerindeki değişikliklerle ilişkili olan genomik varyantlardır (59). PAX5 geni, B lenfositlerinde artan ekspresyonla ilişkili bir cis Alu eQTL'ye sahiptir. Aynı Alu insersiyonu, muhtemelen bir transitif etki sayesinde, çok sa-

yıda PAX5 hedef geninin artan ekspresyonu ile ilişkilidir, bu sayede artan PAX5 ekspresyonu, düzenleyici ağındaki downstream hedeflerinin ekspresyonunu artırmaktadır. eQTL sonuçları hücre tipine özgüdür. eQTL analizlerinin birden fazla hücre ve doku tipine genişletilmesinin, farklı TE-gen düzenleyici etkileri ortaya çıkarması beklenmektedir. Yakın zamanda tamamlanan Genotip-Doku Ekspresyonu (GTEx; <https://www.gtexportal.org/>) Projesi, 50'den fazla hücre/doku türü için eQTL verileri sağlamıştır (51).

Bu türden bir çalışmada, daha önce keşfedilen GWAS özelliği ile ilişkili SNP'ler ile sıkı LD'de 44 Alu insersiyonu belirlenmiştir. Ayrıca, ilgili Alu polimorfizmlerinin sağlık ve hastalıkla ilgili geniş bir fenotip yelpazesi ile ilişkili olduğu bulunmuştur (60).

TE polimorfizmlerinin karmaşık yaygın hastalıklar üzerindeki etkisine ilişkin bir çalışmada, TE aracılı genom düzenlemesi ve hastalıkla ilgili fenotipik etkiler arasındaki bağlantıyı araştırmak üzere, 1) bilinen genom çapında ilişkilendirme çalışmaları (GWAS) SNP'leri ile bağlantı dengesizliğinde (LD) bulunan, (2) dokuya özgü enhancerlar içinde yer alan ve (3) dokuya özgü gen ekspresyon seviyeleri ile ilişkili polimorfik TE insersiyonlarını araştıran genom çapında biyoinformatik taramaların aşamalı bir seti kullanılmıştır. B-lenfositlerine ilişkin gen ekspresyon verilerinin analiz edilerek, aday TE polimorfizmleri kan veya bağışıklıkla ilgili işlevlere sahip genlerle ilişkili olarak araştırılmış ve gen düzenleyici etkileri sayesinde hastalık fenotipleriyle ilişkili olması muhtemel olan hem Alu hem de SVA elemanlarını içeren TE polimorfizmleri belirlenmiştir. Örneğin, B4GALT1 geninin hücre tipine özgü enhancerına bir SVA eklendiği, bu çalışmada tespit edilmiştir. B4GALT1, İmmünooglobulin G (IgG) antikorunu pro-inflamatuvar bir anti-inflamatuvar forma dönüştürmektedir. SVA eklenmesi, B4GALT1 geninin downregülasyonu ile ilişkili bulunmuş, bu nedenle potansiyel olarak artan inflamasyona yol açtığı ve hem inflamatuvar koşullar (Crohn hastalığı) hem de otoimmün hastalık için (Sistemik lupus eritematozus) GWAS tarafından belirtilen bir genomik bölge ile bağlantılı olduğu bildirilmiştir (61).

SONUÇ

TE'ler insan genomunda binlerce lncRNA'nın ana bileşenleridir ve genellikle retroviral LTR'ler tarafından transkripsiyonel olarak yönlendirilirler. TE bileşenli lncRNA'ların bazıları, kök hücre pluripotensinin ve diğer gelişimsel süreçlerin korunmasında önemli roller oynuyor gibi görünmektedir. Birçok çalışma, lncRNA'lar ve mRNA'lar içine gömülü TE dizilerinin, önemli düzenleyici görevleri olduğunu ve RNA stabilitesini, işlenmesini veya lokalizasyonunu doğrudan modüle edebildiğini göstermiştir. Ayrıca, TE'den türetilen mikroRNA'lar ve TE'lerden iş-

lenen diğer küçük RNA'lar, konak hücre fonksiyonlarına katkıda bulunan düzenleyici roller de gösterebilirler. TE'lerin kodlayan ve kodlamayan RNA'lara katkıda bulunduğu sayısız mekanizma, bu elemanlar ve konakçıları arasındaki çok yönlü etkileşimleri göstermektedir (20).

KAYNAKLAR

1. Pradhan RK, Ramakrishna W. Transposons: Unexpected players in cancer. *Gene*, 2022; 808, 145975. Doi:10.1016/j.gene.2021.145975
2. Cordaux R, Batzer MA. The impact of retrotransposons on human genome evolution. *Nature reviews. Genetics*, 2009; 10(10), 691-703. Doi:10.1038/nrg2640
3. Nguyen TM, Alchalabi S, Oluwatoyosi A, et al. New twists on long noncoding RNAs: from mobile elements to motile cancer cells. *RNA biology*, 2020; 17(11), 1535-1549. Doi:10.1080/15476286.2020.1760535
4. Grundy EE, Diab N, Chiappinelli KB. Transposable element regulation and expression in cancer. *The FEBS Journal*, 2021; 10.1111/febs.15722. Advance online publication. Doi:10.1111/febs.15722
5. Chenais B. Transposable elements in cancer and other human diseases. *Current Cancer Drug Targets*, 2015; 15(3), 227-242. Doi:10.2174/1568009615666150317122506
6. Blomberg J, Benachenhou F, Blikstad V, et al. Classification and nomenclature of endogenous retroviral sequences (ERVs): problems and recommendations. *Gene*, 2009; 448(2), 115-123. Doi:10.1016/j.gene.2009.06.007
7. Kassiotis G. Endogenous retroviruses and the development of cancer. *Journal of Immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, 2014; 192(4), 1343-1349. Doi:10.4049/jimmunol.1302972
8. Beck CR, Garcia-Perez JL, Badge RM, et al. LINE-1 elements in structural variation and disease. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 2011; 12, 187-215. Doi:10.1146/annurev-genom-082509-141802
9. Ostertag EM, Goodier JL, Zhang Y, et al. SVA elements are nonautonomous retrotransposons that cause disease in humans. *American Journal of Human Genetics*, 2003; 73(6), 1444-1451. Doi:10.1086/380207
10. Lander ES, Linton LM, Birren B, et al. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature*, 2001; 409(6822), 860-921. Doi:10.1038/35057062
11. de Koning AP, Gu W, Castoe TA, Batzer MA, Pollock DD. Repetitive elements may comprise over two-thirds of the human genome. *PLoS Genetics*, 2011; 7(12), e1002384. Doi:10.1371/journal.pgen.1002384
12. Levin HL, Moran JV. Dynamic interactions between transposable elements and their hosts. *Nature Reviews. Genetics*, 2011; 12(9), 615-627. Doi:10.1038/nrg3030
13. Beck CR, Garcia-Perez JL, Badge RM, Moran JV. LINE-1 elements in structural variation and disease. *Annual Review of Genomics and Human Genetics*, 2011; 12, 187-215. doi:10.1146/annurev-genom-082509-141802
14. Grow EJ, Flynn RA, Chavez SL, et al. Intrinsic retroviral reactivation in human preimplantation embryos and pluripotent cells. *Nature*, 2015; 522(7555), 221-225. Doi:10.1038/nature14308
15. Burns KH, Boeke JD. Human transposon tectonics. *Cell*, 2012; 149(4), 740-752. Doi:10.1016/j.cell.2012.04.019
16. Ardeljan D, Steranka JP, Liu C, et al. Cell fitness screens reveal a conflict between LINE-1 retrotransposition and DNA replication. *Nature Structural & Molecular Biology*, 2020; 27(2), 168-178. Doi:10.1038/s41594-020-0372-1
17. Bartel DP. Metazoan MicroRNAs. *Cell*, 2018; 173(1), 20-51. Doi:10.1016/j.cell.2018.03.006
18. Kapusta A, Kronenberg Z, Lynch VJ, et al. Transposable elements are major contributors to the origin, diversification, and regulation of vertebrate long noncoding RNAs. *PLoS Genetics*, 2013; 9(4), e1003470. Doi:10.1371/journal.pgen.1003470

19. Czech B, Hannon GJ. One Loop to Rule Them All: The Ping-Pong Cycle and piRNA-Guided Silencing. *Trends in Biochemical Sciences*, 2016; 41(4), 324-337. Doi:10.1016/j.tibs.2015.12.008
20. Lee H, Zhang Z, Krause HM. Long Noncoding RNAs and Repetitive Elements: Junk or Intimate Evolutionary Partners? *Trends in Genetics : TIG*, 2019; 35(12), 892-902. Doi:10.1016/j.tig.2019.09.006
21. Gong C, Maquat LE. lncRNAs transactivate STAU1-mediated mRNA decay by duplexing with 3' UTRs via Alu elements. *Nature*, 2011; 470(7333), 284-288. Doi:10.1038/nature09701
22. Carrieri C, Cimatti L, Biagioli M, et al. Long non-coding antisense RNA controls Uchl1 translation through an embedded SINEB2 repeat. *Nature*, 2012; 491(7424), 454-457. Doi:10.1038/nature11508
23. Elbarbary RA, Lucas BA, Maquat LE. Retrotransposons as regulators of gene expression. *Science (New York, N.Y.)*, 2016; 351(6274), aac7247. Doi:10.1126/science.aac7247
24. Kelley D, Rinn J. Transposable elements reveal a stem cell-specific class of long noncoding RNAs. *Genome Biology*, 2012; 13(11), R107. Doi:10.1186/gb-2012-13-11-r107
25. Hinnebusch AG, Ivanov IP, Sonenberg N. Translational control by 5'-untranslated regions of eukaryotic mRNAs. *Science*, 2016; 352(6292), 1413-1416. Doi:10.1126/science.aad9868
26. Petri R, Brattås PL, Sharma Y, et al. LINE-2 transposable elements are a source of functional human microRNAs and target sites. *PLoS Genetics*, 2019; 15(3), e1008036. Doi:10.1371/journal.pgen.1008036
27. Spengler RM, Oakley CK, Davidson BL. Functional microRNAs and target sites are created by lineage-specific transposition. *Human Molecular Genetics*, 2014; 23(7), 1783-1793. Doi:10.1093/hmg/ddt569
28. Piriyaopansa J, Mariño-Ramírez L, Jordan IK. Origin and evolution of human microRNAs from transposable elements. *Genetics*, 2007; 176(2), 1323-1337. Doi:10.1534/genetics.107.072553
29. Roberts JT, Cardin SE, Borchert GM. Burgeoning evidence indicates that microRNAs were initially formed from transposable element sequences. *Mobile Genetic Elements*, 2014; 4, e29255. Doi:10.4161/mge.29255
30. Shin C, Nam JW, Farh KK, Chiang HR, Shkumatava A, Bartel DP. Expanding the microRNA targeting code: functional sites with centered pairing. *Molecular Cell*, 2010; 38(6), 789-802. Doi:10.1016/j.molcel.2010.06.005
31. Ding J, Huang S, Wu S, et al. Gain of miR-151 on chromosome 8q24.3 facilitates tumour cell migration and spreading through downregulating RhoGDIa. *Nature Cell Biology*, 2010; 12(4), 390-399. Doi:10.1038/ncb2039
32. Frankel LB, Di Malta C, Wen J, Eskelinen EL, Ballabio A, Lund AH. A non-conserved miRNA regulates lysosomal function and impacts on a human lysosomal storage disorder. *Nature Communications*, 2014; 5, 5840. Doi:10.1038/ncomms6840
33. Qin S, Jin P, Zhou X, Chen L, Ma F. The Role of Transposable Elements in the Origin and Evolution of MicroRNAs in Human. *PLoS One*, 2015; 10(6), e0131365. Doi:10.1371/journal.pone.0131365
34. Kordyukova M, Olovnikov I, Kalmykova A. Transposon control mechanisms in telomere biology. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2018; 49, 56-62. Doi:10.1016/j.gde.2018.03.002
35. Aschacher T, Wolf B, Enzmann F, et al. LINE-1 induces hTERT and ensures telomere maintenance in tumour cell lines. *Oncogene*, 2016; 35(1), 94-104. Doi:10.1038/onc.2015.65
36. Rodić N, Sharma R, Sharma R, et al. Long interspersed element-1 protein expression is a hallmark of many human cancers. *American Journal of Pathology*, 2014; 184(5), 1280-1286. Doi:10.1016/j.ajpath.2014.01.007
37. Pezic D, Manakov SA, Sachidanandam R, Aravin AA. piRNA pathway targets active LINE1 elements to establish the repressive H3K9me3 mark in germ cells. *Genes & Development*, 2014; 28(13), 1410-1428. Doi:10.1101/gad.240895.114
38. O'Donnell KA. Advances in functional genetic screening with transposons and CRISPR/Cas9 to illuminate cancer biology. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2018; 49, 85-94. Doi:10.1016/j.gde.2018.03.006

39. St Johnston D. The art and design of genetic screens: *Drosophila melanogaster*. *Nature Reviews. Genetics*, 2002; 3(3), 176-188. Doi:10.1038/nrg751
40. Uren AG, Kool J, Berns A, van Lohuizen M. Retroviral insertional mutagenesis: past, present and future. *Oncogene*, 2005; 24(52), 7656-7672. Doi:10.1038/sj.onc.1209043
41. Ivics Z, Hackett PB, Plasterk RH, Izsvák Z. Molecular reconstruction of Sleeping Beauty, a Tc1-like transposon from fish, and its transposition in human cells. *Cell*, 1997; 91(4), 501-510. Doi:10.1016/s0092-8674(00)80436-5
42. Luo G, Ivics Z, Izsvák Z, Bradley A. Chromosomal transposition of a Tc1/mariner-like element in mouse embryonic stem cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1998; 95(18), 10769-10773. Doi:10.1073/pnas.95.18.10769
43. Ding S, Wu X, Li G, Han M, Zhuang Y, Xu T. Efficient transposition of the piggyBac (PB) transposon in mammalian cells and mice. *Cell*, 2005; 122(3), 473-483. Doi:10.1016/j.cell.2005.07.013
44. Rad R, Rad L, Wang W, et al. PiggyBac transposon mutagenesis: a tool for cancer gene discovery in mice. *Science*, 2010; 330(6007), 1104-1107. Doi:10.1126/science.1193004
45. Collier LS, Carlson CM, Ravimohan S, Dupuy AJ, Largaespada DA. Cancer gene discovery in solid tumours using transposon-based somatic mutagenesis in the mouse. *Nature*, 2005; 436(7048), 272-276. Doi:10.1038/nature03681
46. Dupuy AJ, Akagi K, Largaespada DA, et al. Mammalian mutagenesis using a highly mobile somatic Sleeping Beauty transposon system. *Nature*, 2005; 436(7048), 221-226. Doi:10.1038/nature03691
47. Keng VW, Villanueva A, Chiang DY, et al. A conditional transposon-based insertional mutagenesis screen for genes associated with mouse hepatocellular carcinoma. *Nature Biotechnology*, 2009; 27(3), 264-274. Doi:10.1038/nbt.1526
48. Starr TK, Allaei R, Silverstein KA, et al. A transposon-based genetic screen in mice identifies genes altered in colorectal cancer. *Science*, 2009; 323(5922), 1747-1750. Doi:10.1126/science.1163040
49. Chénais B. Transposable elements and human cancer: a causal relationship? *Biochimica et Biophysica Acta*, 2013; 1835(1), 28-35. Doi:10.1016/j.bbcan.2012.09.001
50. Jung S, Ro SW, Jung G, Ju HL, Yu ES, Son WC. Sleeping Beauty transposon system harboring HRAS, c-Myc and shp53 induces sarcomatoid carcinomas in mouse skin. *Oncology Reports*, 2013; 29(4), 1293-1298. Doi:10.3892/or.2013.2264
51. Wang L, Jordan IK. Transposable element activity, genome regulation and human health. *Current Opinion in Genetics & Development*, 2018; 49, 25-33. Doi:10.1016/j.gde.2018.02.006
52. Batzer MA, Deininger PL. A human-specific subfamily of Alu sequences. *Genomics*, 1991; 9(3), 481-487. Doi:10.1016/0888-7543(91)90414-a
53. Batzer MA, Gudi VA, Mena JC, et al. Amplification dynamics of human-specific (HS) Alu family members. *Nucleic Acids Research*, 1991; 19(13), 3619-3623. Doi:10.1093/nar/19.13.3619
54. Brouha B, Schustak J, Badge RM, et al. Hot L1s account for the bulk of retrotransposition in the human population. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2003; 100(9), 5280-5285. Doi:10.1073/pnas.0831042100
55. Kazazian HH Jr, Wong C, Youssoufian H, Scott AF, Phillips DG, Antonarakis SE. Haemophilia A resulting from de novo insertion of L1 sequences represents a novel mechanism for mutation in man. *Nature*, 1988; 332(6160), 164-166. Doi:10.1038/332164a0
56. Ostertag EM, Goodier JL, Zhang Y, Kazazian HH Jr. SVA elements are nonautonomous retrotransposons that cause disease in humans. *American Journal of Human Genetics*, 2003; 73(6), 1444-1451. Doi:10.1086/380207
57. Wang H, Xing J, Grover D, et al. SVA elements: a hominid-specific retroposon family. *Journal of Molecular Biology*, 2005; 354(4), 994-1007. Doi:10.1016/j.jmb.2005.09.085
58. Wildschutte JH, Williams ZH, Montesion M, Subramanian RP, Kidd JM, Coffin JM. Discovery of unfixed endogenous retrovirus insertions in diverse human populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2016; 113(16), E2326-E2334. Doi:10.1073/pnas.1602336113

59. Gibson G, Powell JE, Marigorta UM. Expression quantitative trait locus analysis for translational medicine. *Genome Medicine*, 2015; 7(1), 60. Doi:10.1186/s13073-015-0186-7
60. Payer LM, Steranka JP, Yang WR, et al. Structural variants caused by Alu insertions are associated with risks for many human diseases. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2017; 114(20), E3984-E3992. Doi:10.1073/pnas.1704117114
61. Wang L, Norris ET, Jordan IK. Human Retrotransposon Insertion Polymorphisms Are Associated with Health and Disease via Gene Regulatory Phenotypes. *Frontiers in Microbiology*, 2017; 8, 1418. Doi:10.3389/fmicb.2017.01418