Archive of SID

ژنتیک نوین
دوره چهارم، شماره ۱، بهار ۱۳۸۸
صفحه ۱۵-۵

رتروترانسپوزونهای گیاهی

سجاد رشیدی‌منفرد[۱]، عبدالهادی حسین‌زاده[۲]، محمدرضا نقوی[۳]، امین ابراهیمی[۴]

۱- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، پردیس کشاورزی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۲و۳- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج، ایران

*نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: rashidims@ut.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۸۶/۲/۲۳ - تاریخ پذیرش: ۸۷/۹/۹)

چکیده

رتروترانسپوزون‌ها یا ترانسپوزون‌هایی که بواسطه یک RNA حدواسط منتقل می‌گردند شامل آن دسته از عناصر متحرک می‌باشند که ابتدا از روی توالی DNA آنها RNA ساخته شده و سپس به کمک آنزیم رونوشت بردار معکوس از روی RNA، DNA قابل انتقال به مکان جدید بدست می‌آید. این عناصر ژنتیکی متحرک به مقدار بسیار زیادی در ژنوم گیاهان وجود دارند و نقش مهمی را در تکامل ژنوم گیاهان بازی می‌کنند. مثلا در گندم نان، ۹۰ درصد ژنوم آن از رتروترانسپوزون‌ها می باشد و همچنین در ژنوم ذرت این مقدار بین ۸۰- ۵۰ درصد است. بعضی عقیده دارند که رتروترانسپوزون‌ها از زمان شروع تبدیل ژنوم‌های انواع RNA به DNA منشا گرفته‌اند. فراوانی رتروترانسپوزون‌ها و هتروژن بودن بسیاری از توالی آنها نشان می‌دهد که آنها در گیاهان اولیه حضور داشته‌اند و یا ممکن است که رتروترانسپوزون‌های بعد از تشکیل اولین سلول یوکاریوتی بوجود آمده و از طریق انتقال افقی و عمودی در بین موجودات پراکنده شده باشند.

واژه‌های کلیدی

آنزیم رونویسی‌کننده معکوس،
رترو ترانسپوزون،
RNA حد واسط،
تکامل

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

عناصر متحرک در واقع قطعاتی از ژنوم موجود زنده می‌باشند که قادرند در ژنوم میزبان خود جابجا گردند. این قطعات ابتدا توسط خانم باربارامک کلینتوک دردهه۱۹۶۰، درذرت کشف شدند و ایشان بواسطه این کشف خود در سال۱۹۸۲ موفق به دریافت جایز نوبل گردید.

دریک تقسیم‌بندی کلی می‌توان این قطعات را از نظر نوع انتقال خود در دو گروه بزرگ قرار داد:

۱- عناصری که بصورت DNA قابل انتقال می‌باشند.

۲- عناصری که بواسطه یک RNA حدواسط منتقل می‌گردند.

عناصرگروه اول کمتر از ۶۰۰bp طول دارد، تعداد کپی آنها بسیار زیاد است، نواحی ترجیحی جهت الحاق در ژنوم را داشته (TAcr TAA) قابل ذکر است که عناصری را که خانم مک کلینتوک کشف نمودند، در دسته عناصر گروه اول می‌باشند. البته میزان این عناصر درموجودات مختلف متفاوت می‌باشند. دراین مقاله بیشتر در مورد عناصر گروه دوم یعنی عناصری که ازطریق یک RNA حدواسط منتقل شده و یا به عبارتی دیگر رتروترانسپوزون‌ها، توضیح داده خواهد شد.

انواع، ساختار و توزیع رتروترانسپوزون‌ها درگیاهان

این عناصر به دو دسته بزرگ تقسیم‌بندی می‌شوند (شکل۲).

۱- رتروترانسپوزون‌های دارای توالی‌های بلند تکراری انتهایی LTR (Long Terminal Repeat)

۲- رتروترانسپوزون‌های فاقد LTR

رتروترانسپوزون‌های LTRدار خود به دو دسته اصلی تقسیم‌بندی می‌شوند.

۱- Ty_1 –copia

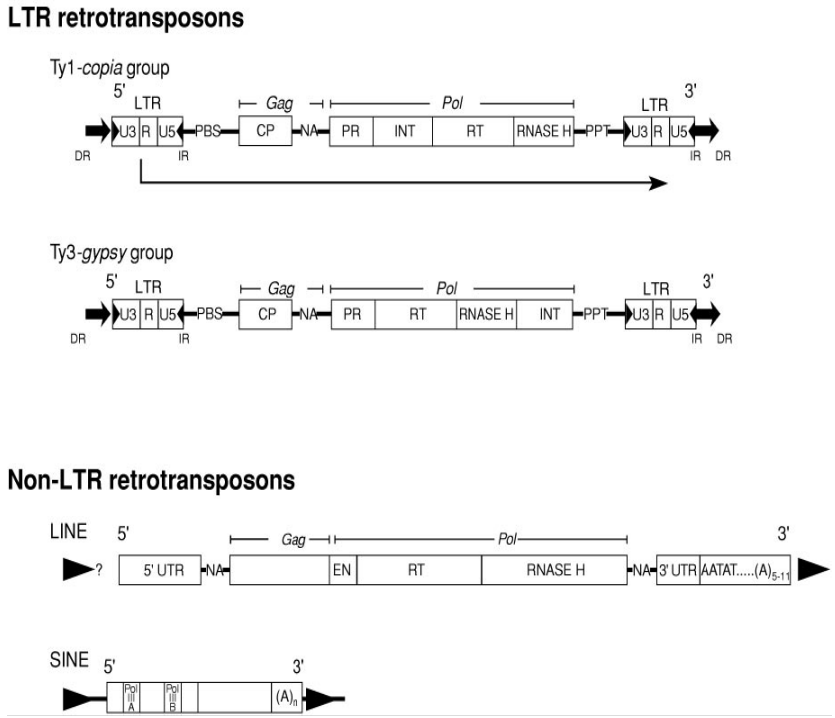
۲- Ty_3 –gypsy

این دو گروه هم در میزان شباهت توالی‌هایشان و هم در نوع ژن‌های که کد می‌کنند با همدیگر متفاوت هستند. Ty_1 –copia در کل سلسله گیاهی از یک جلبک تک سلولی گرفته تا در بریوفیت‌ها، نهاندانگان و بازدانگان و Ty_3 –gypsy نیز بطور گسترده هم درنهاندانگان و هم دربازدانگان وجود دارند. همچنین هر دو گروه رتروترانسپوزون‌ها در کپی‌های بسیار زیادی (بیش از چند میلیون کپی در هر هسته هاپلوئید درگیاهان با ژنوم بزرگ) در توالی‌ها دیده می‌شوند. همچنین رتروترانسپوزون‌های فاقد LTR مانند توالی‌های تکرارشونده بزرگ LINES (Long Interspersed Element) و توالی‌های تکرارشونده کوتاه SINES (Short Interspersed Elements) نیز درکپی‌های بسیار زیاد (بیشتر از۲۵۰۰۰۰) در ژنوم‌های گیاهی وجود دارند. همچون رتروترانسپوزون‌های LTR دار، LINES ها هم درسراسر ژنوم سلسله گیاهی پراکنده هستند. SINES ها درچندین نهاندانه یافت شده وممکن است که این نوع رتروترانسپوزون‌ها هم درکل گیاهان پراکنده شده باشند (۸,۱۲,۲۱,۱۱).

گروه copia– Ty_1 ازLTR– رتروترانسپوزون‌ها

LTR رتروترانسپوزون‌ها دارای یک توالی تکراری بلند انتهایی می‌باشند که این توالی بین ۱۰۰bp وkbp ۱ طول دارد. این توالی‌های LTR هیچ نوع پروتئینی را کد نکرده، بلکه دارای توالی‌های شروع و خاتمه جهت نسخه‌برداری رتروترانسپوزون‌ها می‌باشند. LTR ها به یک توالی معکوس کوتاه ختم شده که معمولاً بصورت ′ 5′–TG–3 و′ 5′–CA–3 می‌باشد. این نوع رتروترانسپوزون‌ها چند نوع پروتئین کد می‌کنند که ژن‌های کدکنندهٔ پروتئین را می‌توان به سه گروه اصلی تقسیم نمود. Gag، Pol، Int این ژن‌ها و پروتئین‌های آنها همگی محصول یک مولکول mRNA با ساختار زیر می‌باشد:′ 3′–PPT–U_3–R–3 ناحیه کدشونده – 5′–R–U_5–PBS: که R (Repeat)، U_5 (Unique) PBS (Primer binding site)

Archive of SID



شکل۲: انواع رتروترانسپوزون‌ها و ساختار آنها (۷)

(Polypurine tract) PPT، U_3، به‌ترتیب RNA تکرارشونده، RNA ′5 غیرتکراری، محل اتصال آغازگر، قطعه پلی‌پورینی، RNA ′3 غیرتکراری می‌باشند. نسخه‌برداری ازانتهای ′5 LTR یعنی نقطهٔ R شروع شده در ′3 LTR یعنی باز همان نقطه (R) به پایان می‌رسد. نتایج نشان می‌دهد که ′3 LTR ها همچنین دارای یک پروموتوری است که می‌تواند توالی‌های پایین دست ناحیه الحاق رتروترانسپوزون را نسخه‌برداری نماید. پروتئین‌های کد شده توسط ژن‌های Gag، Pol ، Int بصورت یک پلی‌پروتئین بوده و سپس این پلی‌پروتئین توسط پروتئاز کد شده بوسیله توالی Pol شکسته می‌شود. ژن Gag پروتئینی راکد می‌کند که نه تنها در بلوغ ژن Pol نقش داشته، بلکه یک آنزیم رونویسی کننده معکوس جهت همانند سازی رتروترانسپوزون را نیز کد می‌کند. این آنزیم علاوه برنقش پلیمرازی نقش ریبونوکلئازی(RNAaseH) داشته و باعث تجزیه RNA در حین تولید cDNA می‌شود. ژن Int پروتئینی را کد می‌کند که جهت الحاق شکل cDNA رتروترانسپوزون درژنوم موجود موثر است. دربعضی موارد پروتئین‌های Gag، Int و Pol در یک چهارچوب خواندن ترجمه‌ای (Translational Reading Frame) کد می‌شوند، اما درموارد دیگر، دو یا بیشتر از دو چهارچوب وجود دارد که باعث تغییر چهارچوب و یا آغاز مجدد ترجمه شده و این منجر به اختلاف در بیان ژن‌های مختلف یک رتروترانسپوزون می‌گردد.

رتروترانسپوزون‌های LTR دار، درهسته ابتدا به یک ملکولmRNA نسخه‌برداری شده و سپس جهت انتقال به نقاط دیگر ژنوم به DNA دورشته‌ای تبدیل می‌گردند. در واقع این ملکول mRNA پروتئین‌های موردنیاز جهت همانند سازی، الحاق، انتقال رتروترانسپوزون را فراهم آورده و هم یک الگو جهت ایجاد DNA بوجود می‌آورد. مطابق اطلاعات فوق این عناصر درصد بالایی از ژنوم یوکاریوتها را به خود اختصاص می‌دهند و همانند ژن‌های دیگر موجود در آنها بیان می‌گردند که بیان آنها مزیت‌هایی را برای موجود داشته (که در ادامه توضیح داده خواهد شد). می‌توان گفت که ژن‌های یوکاریوتی همانند ژن‌های پروکاریوتی در این دسته از ژن‌های خود پلی‌سیسترونی می‌باشند (۲۱,۱۲,۱۱).

www.SID.ir

Archive of SID

چگونگی تکثیر رتروترانسپوزون‌ها

همانطور که در شکل۳ نشان داده شده ابتدا ملکول mRNA توسط آنزیم RNA پلیمراز II از DNA رتروترانسپوزون تولید شده، که این ملکول mRNA دارای نواحی ذیل می‌باشد.'3–R–U_3–PPt– ناحیه کدکننده – PBS– U_5 – R –5′، سپس یک ملکول tRNA از سلول میزبان که قسمت انتهای '3 آن مکمل ناحیه PBS درقسمت انتهای 5′ mRNA رتروترانسپوزون است به آنجا متصل می‌گردد. سپس آنزیم رونویسی کننده معکوس با عمل پلیمرازی خود، قسمت مکمل U_5 و R درانتهای5′ رتروترانسپوزون رابه '3–OH انتهای tRNA می‌افزاید.

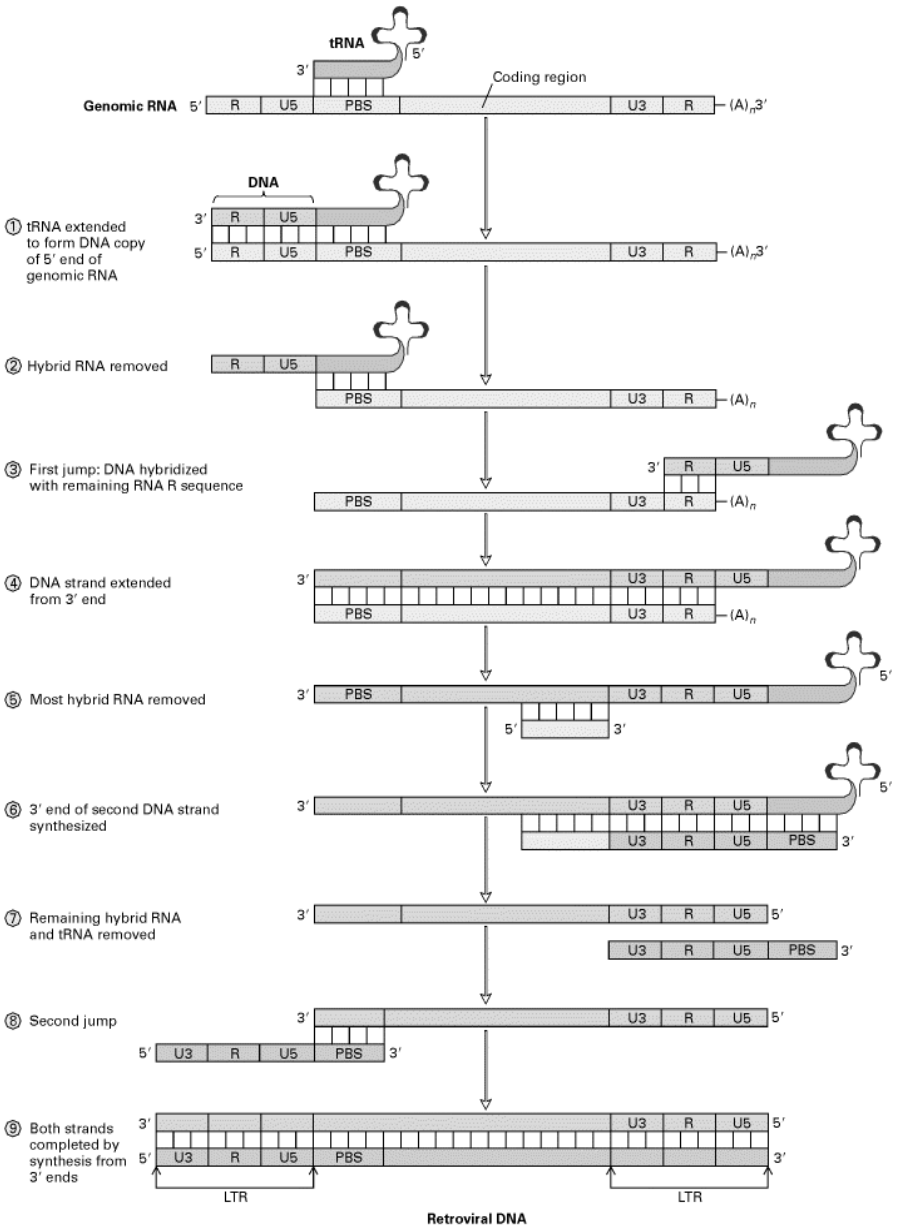
بعداً این آنزیم با فعالیت RNAaseH خود قسمت RNA مکمل را هضم کرده و در مرحله بعد ترکیب TRNA– '3 – U_5 – R، به ناحیه '3 رتروترانسپوزون (mRNA) منتقل شده (jumping1) و از طریق توالی R موجود در'3 رتروترانسپوزون به آنجا متصل می‌شود و آنزیم رونویسی کننده معکوس با استفاده از انتهای'3 ناحیه mRNA به عنوان آغازگر، ناحیه مکمل DNA تازه سنتز شده‌ی متصل به tRNA یعنی U_5، R، U_3 را سنتز می‌نماید. در واقع این عمل همراه با هضم RNA مکمل می‌باشد. یعنی اینکه همانندسازی در دو جهت ادامه پیدا می‌کند. در مرحله بعد tRNA از DNA جدا شده سپس قطعهٔ کوتاه DNA که دارای توالی PBS و U_5 وR و U_3 است به ناحیه '3 DNA تازه سنتز شده از طریق توالی PBS خود که مکمل انتهای '3 DNA است، متصل می‌گردد. «jumping2» سپس آنزیم رونویسی کننده معکوس، DNA مکمل این قطعه را به انتهای '3 DNA تازه سنتز شده، می‌افزاید و بعد به انتهای '3 این قطعه DNA مکمل را افزوده و رتروترانسپوزون تکمیل می‌گردد. بعد از تکمیل این DNA دورشته‌ای، توسط آنزیم اینتگراز که رشته DNA هدف را بصورت اریب برش داده الحاق می‌یابد و همین برش اریب باعث تشکیل توالی‌های تکراری مستقیم در دو انتهای رتروترانسپوزون می‌شود. طول این توالی تکراری مستقیم بین ۳ الی ۵ نوکلئوتید می‌باشد. تجزیه و تحلیل‌های صورت گرفته روی آنزیم اینتگراز BARE-۱ که در۸۰ کلون از ۲۸ هوردئوم (جنس جو) انجام گرفته بود بطور قابل توجهی مشخص کرد که ساختار این آنزیم شبیه آنزیم HIA (اینتگراز) ویروس سارکوم می‌باشد.

Ty_3–gypsy از رتروترانسپوزون‌های LTRدار

این عناصر مانند رتروترانسپوزون‌های گروه Ty_1–copia عمل کرده و اختلاف بین این دو گروه در ترتیب ژن‌های Pol و Int می‌باشد. مقایسه توالی آنزیم رونویسی کننده معکوس نشان داده که رتروترانسپوزون‌های Ty_1–copia و Ty_3–gypsy از دودمان‌های مختلفی شکل گرفته‌اند. بنابراین از روی بررسی این توالی‌ها می‌توان جهت تعیین نیای رتروترانسپوزون‌ها استفاده کرد. از طریق نوع توالی و معیار هم نیا مشخص شد که رتروترانسپوزون‌های Ty_3–gypsy منشأ رتروویروس‌های حیوانی می‌باشند. درواقع رتروویروس‌ها از اینها از طریق کسب ژن env (envolpe) که ایجاد پوشش پروتئینی ویروس را ممکن می‌سازد، بوجود آمده‌اند. این پروتئین باعث بسته بندی ذرات ویروس شده و آنها می‌توانند بین سلولها جابجا گردند و خاصیت آلوده کنندگی داشته باشند.

همچنین مشخص شده که ژن env آخرین پروتئینی است که در زنجیره mRNA کد می‌گردد. در واقع در توالی بالا دست 'LTR 3 قرار داشته اما خیلی مشخص نیست که آیا عناصر شبیه Ty_3–gypsy رتروترانسپوزون هستند و یا رترو ویروس. داده‌ها نشان می‌دهد که مکانیسم انتقال درون سلولی، همانندسازی، الحاق رتروترانسپوزون‌های گروه Ty_3–gypsy و Ty_1–copia و رتروویروس‌ها شبیه همدیگر می‌باشد (۲۱,۱۱).

Archive of SID



شکل۳- مراحل مختلف همانندسازی رتروترانسپوزون‌های LTR دار (جهت توضیحات بیشتر به متن مراجعه شود(۱۲)).

LINES (Long Interspersed Element)

این عناصر ساده‌تر از رتروترانسپوزون‌های LTR دار بوده و بسیاری از پروتئین‌هایی را که رتروترانسپوزون‌های LTR دار کد کرده، را می‌سازند. LINES، ژن‌های pol و Gag را دارند، اما فاقد یک اینتگراز مشخص می‌باشند. درحقیقت ژن Gag یک پروتئین مخصوص با فعالیت اندونوکلئازی است که در الحاق این نوع رتروترانسپوزون‌ها نقش دارد. از طریق معیار تنوع توالی، مشخص شده که LINES قدیمترین کلاس از رتروترانسپوزون‌های یوکاریوتی می‌باشند. مطالعات هم نیای نشان می‌دهد، که اولین رتروترانسپوزون‌های LTRدار ممکن است از طریق کسب LTR توسط LINES بوجود آمده باشند. LINES کلاس اصلی (فراوانترین) را در پستانداران تشکیل داده (از رتروترانسپوزون‌ها) و اینها حدود ۵۰۰۰۰ بار در ژنوم تکرار شده‌اند و در حدود (۵–۱۰٪) ژنوم را به خود اختصاص داده‌اند. LINES در پستانداران سه نوع هستند L_1، L_2، L_3، که بر اساس تفاوت در توالی و طولشان تقسیم‌بندی شده‌اند. اکثر این توالی‌ها دارای

www.SID.ir

Archive of SID

انتهای '5 ناقص (Truncted) می‌باشند و در قسمت '3 خود دارای توالی پلی A می‌باشند. این توالی توسط دو قطعهٔ DNA مستقیم تکراری که حاصل برش توسط آنزیم اینتگراز است بوجود آمده‌اند. LINES از دو ناحیه که شامل چهارچوب ORF_1 و ORF_2 است ساخته شده‌اند که ORF_1 تقریباً ۱Kb (۱۱۳۷kb) و ORF_2 تقریبا ۴kb (۳۹۰۰) طول دارد. ناحیه اول یک پروتئین متصل به RNA را کد می‌کند و ناحیه دوم پروتئینی را کد کرده که همولوژی زیادی با آنزیم رونویسی کننده معکوس دارد. همچنین این پروتئین دارای فعالیت اگزونوکلئازی می‌باشد. درکنار ناحیه ORF_1 یک ناحیه غنی از A/ T وجود دارد. بعد از سنتز mRNA این نوع رتروترانسپوزون‌ها، توسط آنزیم RNA پلیمراز II در اثر تغییرات بعد از نسخه‌برداری یک توالی پلی A به انتهای ′ 3 این mRNA اضافه می‌شود.

بعد از این عمل چندین پروتئین حاصل از ORF_1 و ORF_2 به این mRNA متصل شده و این mRNA بداخل هسته مهاجرت می‌کند. سپس ORF_2 ایجاد شکستگی اریب در یک ناحیه غنی از A/ T در DNA هدف را می‌نماید و توالی دوم پلی A متصل به mRNA که مکمل این ناحیه است بدان متصل می‌گردد و آنزیم رونویسی کننده معکوس ازطریق فعالیت پلمرازیش نوکلئوتیدهای مکمل را به آغازگر (DNA ناحیه برشی) متصل می‌کند. نکته‌ای که باید به آن اشاره داشت اینست که دو ناحیه ORF_1 و ORF_2 از همدیگر جدا نبوده بلکه این دو ناحیه مذکور در۱۴ نوکلئوتید با همدیگر همپوشانی دارند. اما علت انتهای ناقص′ 5 اکثر LINE بدلیل انجام ناقص عمل پلیمریزاسیون، توسط آنزیم رونویسی کننده معکوس است. این آنزیم قبل از کامل شدن فعالیتیش آنرا خاتمه داده و این عمل باعث می‌شود که قطعاتی با طول‌های مختلف در ژنوم الحاق پیدا کنند و به این دلیل میانگین طول LINES به حدود bp ۹۰۰ کاهش می‌یابد. همچنین موتاسیون‌هایی در طی تکامل در نواحی ORF_1 و ORF_2 صورت گرفته که مجموع این عوامل موجب شده که تنها ۱٪ ازتوالی‌های LINES در ژنوم انسان طول کامل داشته باشند. از بین انواع توالی LINES که اشاره گردید فراوانترین آنها در ژنوم انسان L_1ها می‌باشند (شکل ۷,۲۱,۱۰.۴).

(short Interspersed Elements) SINES

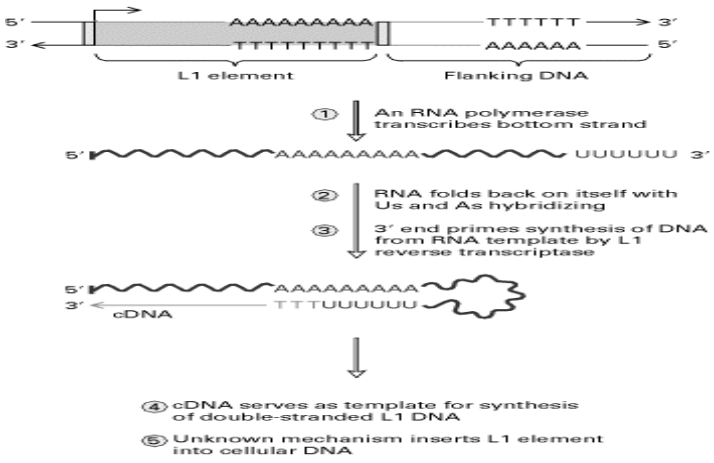
این عناصر۱۳٪ از کل ژنوم (پستانداران) را به خود اختصاص داده و همراه با توالی‌های LINES، چیزی حدود ۳۰-۲۵ ٪ ژنوم پستانداران تشکیل می‌دهند و طولشان بین۱۰۰-۴۰۰ bp است. اینها پروتئینی را کد نکرده اما حاوی توالی غنی از A/T مشابه LINES درانتهای ′ 3 خود می‌باشند و توسط آنزیم RNA پلیمراز III نسخه برداری شده که این آنزیم 5srRNA، tRNA را نیز نسخه‌برداری می‌کند. این توالی‌ها به مقدار ۱/۶ میلیون بار در ژنوم انسان تکرار شده‌اند و از بین این مقدار حدود ۱/۱ میلیون کپی از آن را توالی‌های ALU تشکیل می‌دهد و به این دلیل به آنها توالی‌های Alu گویند که توسط آنزیم محدود کننده AluI برش می‌خورند. خانواده Alu دارای دو توالی در نیمه راست (Right half) و نیمه چپ (Leaft Half) خود بوده، که این توالی‌های تکراری کوتاه شباهت زیادی به 7SLRNA که RNA موجود در ریبونوکلئوپروتئینی به نام SRP است و شناسای سیگنال نشانه، جهت انتقال پروتئین‌های ساخته شده در شبکه آندوپلاسمی به عهده دارد. ۹۰ باز انتهای ′ 5 7SLRNA همولوژی را با انتهای سمت چپ (Alu داشته) ولی ۱۶ نوکلئوتید قسمت مرکزی آن هیچگونه همولوژی با توالی Alu نداشته و۴۰ باز انتهای′ 3 7sLRNA با ناحیه سمت راست توالی Alu نیز همولوژی دارد. این دسته از رتروترانسپوزون‌ها هیچ نوع پروتئینی را کد ننموده و به همین دلیل جهت انتقال و الحاق در ژنوم بایستی از آنزیم‌های تولید شده توسط دیگر رتروترانسپوزون‌ها استفاده نمایند. باتوجه به شباهت زیاد این توالیها به 7SLRNAها گفته می‌شود که اینها ممکن است در اثر نسخه‌برداری معکوس از این نوع RNAها حاصل شده باشند.

این رتروترانسپوزون‌ها ایجاد شبه ژن‌هایی (pseudo gene) در ژنوم کرده که قادر به تولید پروتئین نبوده و توالی‌های اینترون خود را از دست داده‌اند و حاوی یک پلی A در قسمت انتهای خود می‌باشند. این mRNAها قادر به تولید پروتئین نبوده ولی پردازش شده‌اند و توسط آنزیم‌های ساخته شده بوسیله گروه‌های دیگر رتروترانسپوزون‌ها به DNA تبدیل شده و در داخل ژنوم الحاق یافته‌اند (۷,۲۱,۱۶).

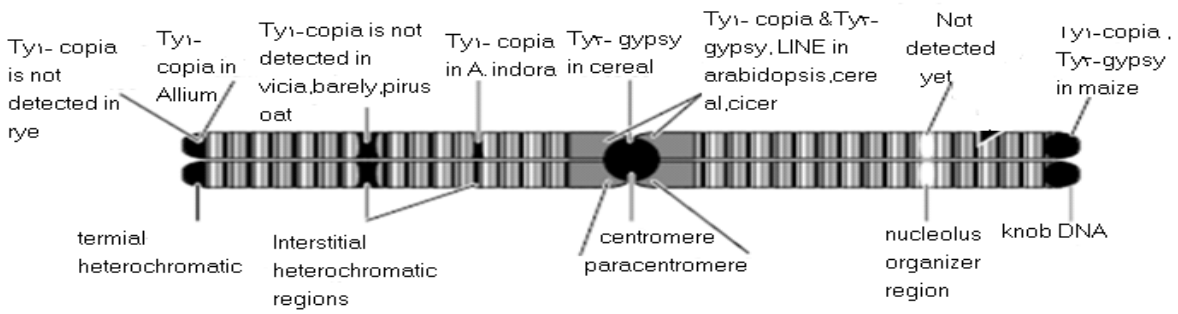
Archive of SID

توزیع رتروترانسپوزون‌ها درکروموزوم

در بسیاری از موارد رتروترانسپوزون‌های Ty_1–copia و LINES و Ty_3–gypsy، SINES در سراسر کروموزوم گیاهان پخش شده‌اند. البته هرگروه رتروترانسپوزون‌ها، خانواده‌ای داشته که در نقاط خاصی از ژنوم تجمع پیدا کرده و در نقاطی دیگری از کروموزوم در ژنوم وجود ندارند. برای مثال رتروترانسپوزون‌های Ty_3 –gypsy درنواحی سانترومری ذرت، چاودار و گندم تجمع یافته‌اند در حالیکه تعدادی از Ty_1–copia، درنواحی هتروکروماتینی انتهای کروموزوم‌های سیر وجود داشته و یا مثلاً در همان نواحی درگیاه چاودار وجود نداشته. رتروترانسپوزون‌ها در نواحی سازمانده‌های هستکی گیاهان وجود ندارند. بسیاری از رتروترانسپوزون‌ها بصورت ترجیحی درنواحی یوکروماتینی که اکثر ژن‌های گیاهی وجود دارند قرار گرفته‌اند. تجزیه و تحلیل توالی کلون‌های ژنومی بزرگ در ذرت نشان داد که این رتروترانسپوزون‌های یوکروماتینی اکثراً در نواحی بین ژنی هستند. همچنین نتایج حاصل از هیبریداسیون در محل (Hybridization In Situe) کروموزوم‌های متافاز و پروفاز نشان داد که Ty_1–copia ها در سراسر نواحی یوکروماتینی توزیع گردیده‌اند (شکل۵) و گاهی اوقات این توزیع برابر و گاهی نا برابر بوده که بستگی به گونه گیاهی دارد (۶).



شکل۴: مراحل مختلف تکثیر رتروترانسپوزونهای دسته(LINE21)



شکل۵: مکان فیزیکی انواع رتروترانسپوزون‌ها (۱۱)

www.SID.ir

Archive of SID

فراوانی رتروترانسپوزون‌ها در گیاهان نسبت به دیگر یوکاریوت‌ها

تغییرات در اندازه ژنوم گیاهان هم با کل توده رتروترانسپوزون‌ها و هم با تعداد خانواده‌های متفاوت رتروترانسپوزون‌ها همبستگی دارد. مثلا ساکارومایسس دارای ۵ خانواده LTR رتروترانسپوزون‌ها است که حدود ۳٪ کل ژنوم را به خود اختصاص داده است در آرابیدوپسیس هم LTR رتروترانسپوزون‌ها و هم رتروترانسپوزون‌های فاقد LTR که شامل Ty3-gyspy، Ty1-copia و عناصر LINE می‌باشند، وجود دارد که برای هر گروه ۱۰۰-۱ خانواده وجود دارد. در مجموع بین ٪۱۰-۴ کل ژنوم را به خود اختصاص داده در حالیکه در ذرت هزاران خانواده مختلف رتروترانسپوزون‌ها LTRدار و فاقد LTR وجود دارد که حدود ۸۵- ۵۰ ٪ کل ژنوم این گیاه را به خود اختصاص داده که در گندم این میزان به ۹۰٪ هم می‌رسد. در ژنوم اکثر پستانداران مانند ژنوم انسان SINE، LINE (مثلا L_1 ,Alu) عناصر اصلی متحرک در ژنوم می‌باشند که چیزی حدود ۳۵٪ کل ژنوم را تشکیل داده برای هر نوع عنصر ۱۰۰۰۰ کپی وجود دارد. بطور جالب توجهی رتروویروس‌ها و باقیماندهایشان (اجدادشان) عناصر Ty3-gypsy در پستانداران پراکنده شده‌اند. گروه Ty1-copia ظاهرا وجود ندارد و یا در مقادیر خیلی کمی وجود دارد. در مقابل LINEs، Ty3-gypsy.SINE، Ty1-copia در گیاهان بوفور یافت می‌شوند. ژنوم گیاهان هم از لحاظ تنوع و هم از لحاظ فراوانی رتروترانسپوزون‌ها با ژنوم جانوران فرق داشته و در ژنوم گیاهان بر خلاف ژنوم جانوران، رتروترانسپوزون‌های کارکردی یا وجود ندارد و یا خیلی تعدادشان کم است .

در ژنوم‌های یوکاریوتی Drosophila، c-elegance، Arabidopsis عناصر SINE یا وجود ندارند و یا مقدار آنها خیلی کم است. شاید یکی از دلایل این است که ژنوم‌های کوچک از طریق پروسه‌های خاص، رتروترانسپوزون‌ها و ژن‌های دروغین را از ژنوم خودشان خذف کرده باشند همچنین فعالیت نسبتا پایین LINEها در این گونه‌ها به غیر از مگس سرکه ممکن است منجر به کاهش تعداد الحاقات SINEها در ژنوم‌شان گردد (۱۶،۹).

رتروترانسپوزون‌ها در ژنوم اندامک‌ها

هیچ گزارشی مبنی بر وجود رتروترانسپوزون‌ها در ژنوم کلروپلاست‌ها دیده نشده است ولی ژنوم میتوکندری حاوی تعداد بسیار زیادی از رتروترانسپوزون‌های Ty1-copia،Ty3-gypsy، LINE است. حدود ۴٪ و یا بیش از ۴٪ ژنوم میتوکندری آرابیدوپسیس حاوی این قطعات رتروترانسپوزونی است. ممکن است این قطعات در نواحی تکراری ژنوم میتوکندری از طریق کسب این توالی‌ها از ژنوم هسته تجمع پیدا کرده باشند (۱۵).

تنظیم بیان و انتقال

تنظیم نسخه‌برداری

بدلیل اینکه رتروترانسپوزون‌ها بدون یک RNA حد واسط که جهت نسخه‌برداری‌شان مورد نیاز است نمی‌توانند در ژنوم انتقال یابند ساده‌ترین راه برای کنترل فعالیتشان تنظیم در سطح نسخه برداری است. بسیاری از رتروترانسپوزون‌ها الگوهای منحصر بفردی از توسعه و یا تنظیم شدن محیطی را نشان می‌دهند. نسخه‌های Tnt1 توتون، BARE-1 جو، PREM-2 ذرت ابتدا در ریشه برگ‌ها و میکروسپورهای جوان به ترتیب مشاهده شدند. گزارشات کمی در مورد تنظیم بیان رتروترانسپوزون‌های فاقد LTR در گیاهان وجود دارد. برای مثال خانواده SIBN از SINEها در شاخسارها؛ ریشه و در کشت کالوس بیان شده است. آنالیز نسخه برداری عناصر SIBN مشخص ساخت که اکثر RNAهای SIBN نتیجه نسخه‌برداری توام (co-transcriptional) مشتق شده از حضور یک عنصر از واحد نسخه برداری PolII است. همبستگی بین نسخه‌برداری و انتقال رتروترانسپوزون‌های Tto توتون و Tosl7 برنج بیانگر آن است که تنظیم فعالیت این عناصر عمدتا در سطح نسخه‌برداری صورت می‌گیرد. مثلاً حدود ۱۰ برابر افزایش در تعداد کپی‌های عنصر Ttol در کشت بافت مشاهده شده که در واقع آنجا نسخه‌برداری این عنصر شدیداً صورت می‌گیرد (۲۰،۱۹).

Archive of SID

فعالسازی رتروترانسپوزون‌ها بوسیله استرس‌های زنده و غیر زنده

بسیاری از رتروترانسپوزون‌های گیاهی، تحت تنش‌های محیطی زنده و غیر زنده فعال می‌شوند. بیان Tnt1, Tntol توتون بوسیله چندین تنش غیر زنده از جمله ایزولاسیون پروتوپلاست، کشت سلولی، زخم شدن بافت‌ها متیل جاسمونات، cucl2 وسالیسیلیک اسید صورت می‌گیرد. تنش‌های زنده و مختلف مانند عفونت‌های ویروس‌ها، باکتری‌ها، قارچ‌ها، باعث فعالسازی رتروترانسپوزون‌ها می‌شود. رتروترانسپوزون Tos 17 در مقایسه با Tntl, Ttol تنها بوسیله کشت بافت فعال شده، این نتایج نشان می‌دهد که رتروترانسپوزون‌ها دارای توالی‌های cis-acting می‌باشند که الگوهای بیانشان را در میزبان کنترل می‌کند (۲۰,۱۹).

مبدا و تکامل رتروترانسپوزون‌های گیاهی

مقایسه توالی ژنی LINE و LTR رتروترانسپوزون‌ها نشان می‌دهد که اولین رتروترانسپوزون‌ها LINE ها بوده‌اند و بعداً رتروترانسپوزون‌های LTR دار از آنها از طریق کسب توالی تکراری مستقیم مشتق شده‌اند. رترو ویروس‌ها ظاهراً در حیوانات از رتروترانسپوزون‌های Ty3-gypsy از طریق کسب ژن تشکیل دهنده پوشش پروتئینی ویروس تکامل پیدا کرده‌اند.

بعضی عقیده دارند که رتروترانسپوزون‌ها از زمان شروع تبدیل ژنوم‌های RNA دار به DNA (ژنوم بر اساس DNA) منشا گرفته‌اند. فراوانی رتروترانسپوزون‌ها و هتروژن بودن بسیاری از توالی‌هایشان نشان می‌دهد که آنها در گیاهان اولیه حضور داشته‌اند و یا ممکن است که رتروترانسپوزون‌ها بعد از تشکیل اولین سلول یوکاریوتی بوجود آمده باشند و از طریق انتقال افقی و عمودی در بین موجودات پراکنده شده باشند. آنها بطور موفقیت آمیزی در بین موجودات یوکاریوتی آلی تکثیر پیدا کرده‌اند. سهم آنها در تکامل موجودات یوکاریوتی هم غیر قابل انکار است.

در واقع حضور این عناصر می‌تواند برای ژنوم مفید باشد. یعنی در اثر فشار انتخاب ژنوم‌هایی که دارای رتروترانسپوزون هستند می‌توانند موتاسیون‌های مختلف را کسب نموده و این یک مزیت برای ژنوم می‌باشد. همچنین این عناصر می‌توانند به عنوان یک پروموتور برای ژن‌های وحشی موجود در گیاهان عمل کنند و در نتیجه باعث بیان آنان شوند (۱۷,٦,۱۱).

رتروترانسپوزون‌ها و رترو ویروس‌ها

رتروترانسپوزون‌ها و رترو ویروس‌ها هم از لحاظ سازمان ژنومی و هم از لحاظ توالی‌هایی که کد می‌کنند خیلی شبیه یکدیگر بوده ولی رتروترانسپوزون‌ها فاقد توالی (env) کد کننده پوشش پروتئینی ویروس می‌باشند. به همین دلیل سیکل همانندسازی آنها محدود به یک سلول است. در واقع ژن env جهت انتقال رترو ویروس‌ها از یک سلول به سلول دیگر مورد نیاز می‌باشد.

در اوایل به نظر می‌رسید که رتروویروس‌ها منحصراً در مهرداران وجود دارند اما در سال ۹٤ برای اولین بار رتروویروس‌ها درمگس سرکه مشاهده شدند. گفته می‌شود که رتروترانسپوزون‌ها LTR دار Ty3-gypsy با کسب ژن env به رتروویروس‌ها تبدیل شده‌اند. در رتروترانسپوزون‌های Ty1-copia لوبیا توالی شبیه به ژن env مشاهده شده است. این مشاهده نشان می‌دهد که کسب ژن env توسط یکی از رتروترانسپوزون‌های Ty1-copia و یا Ty_3-gypsy صورت گرفته و سپس این توالی از طریق نوترکیبی به دیگر رتروترانسپوزون‌ها منتقل شده است.

در حیوانات ژن env در انتقال ذرات ویروسی از یک سلول به سلول دیگر از راه غشاء پلاسمایی بوسیله گیرنده‌های آندوسیتوزی حد واسط نقش داشته، اما در گیاهان چنین مسیرهای برای انتقال بدلیل حضور دیواره سلولی وجود ندارد. ویروس‌های پوشش‌دار گیاهی از یک سلول به سلول دیگر از طریق کانال‌های پلاسمودسماتا حرکت می‌کنند. پروتئین‌های کد شده ویروسی اندازه پلاسمودسماتا را تغییر داده و بدینوسیله باعث انتقال ویروس‌های گیاهی از طریق پلاسمودسماتا می‌شوند این پروتئین‌های انتقال دهنده معلوم نیست که توسط رتروویروس‌ها کد می‌شوند و یا اینکه برخی از پروتئین‌های کد شده توسط رتروترانسپوزون‌های LTR دار گیاهان می‌توانند چنین کار کردی را داشته باشند .ممکن است که ژن‌های شبیه به env در گیاهان در لاین‌های متفاوت تکامل پیدا کرده باشند که این منجر به ایجاد

www.SID.ir

Archive of SID

پروتئین‌های شبیه env با عملکردهای متفاوت و مشخص در گیاهان می‌گردد (۱۷,۶).

انتقال افقی

تجزیه فیلوژنتیکی بر پایه توالی‌های آنزیم‌های نسخه‌بردار معکوس و اینتگراز از رتروترانسپوزون‌های Ty3-gypsy,Ty1-copia گیاهان شواهد قوی را در خصوص انتقال عمودی رتروترانسپوزون‌ها آشکار ساخت. در مقابل انتقال افقی رتروترانسپوزون‌های گیاهان دیده نشده است. زیرا همه یا اغلب رتروترانسپوزون‌های گیاهی فاقد توالی env می‌باشند چونکه این توالی جهت انتقال رتروترانسپوزون‌ها از یک سلول به سلول دیگر مورد نیاز است.

توالی‌های شبیه به env در برخی از رتروترانسپوزون‌ها گیاهی دیده شده است که ممکن است این توالی از رترو ویروس‌های موجود در حشرات به گیاهان منتقل شده باشد، مثلا اگر یک رترو ویروس موجود در حشره در زمان تغذیه حشره از گیاهان وارد آن شود و بصورت یک رتروترانسپوزون داخل سلولی درآید، از طریق کراس اور این توالی (env) بین دیگر رتروترانسپوزون‌ها منتقل می‌گردد. موفقیت در انتقال افقی برخی از رتروترانسپوزون‌ها از یک گیاه به گیاه دیگر نشان می‌دهد که فاکتورهای میزبان مورد نیاز برای رتروترانسپوزیشن در گیاهان آلی حفظ شده است. یک حامل احتمالی برای رتروترانسپوزون‌های گیاهی حشرات می‌باشند. زیرا فعال‌سازی آنها توسط تنش‌ها صورت می‌گیرد. حشرات از طریق تنش‌های همراه با خسارت (تغذیه حشره) به عنوان یک حامل جهت انتقال این عناصر به گیاهان دیگر می‌باشند. مشخص گردیده که سلول‌های یوکاریوتی ظرفیت جذب اسیدهای نوکلئیک خارجی به داخل ژنوم خود را دارند. شاید محدودیت اصلی جهت انتقال افقی تعداد کم سلول‌هایی است که در تولید نسل بعد دخیل می‌باشند (ژرم لاین). به هر حال انتقال افقی رتروترانسپوزون‌ها که خیلی بندرت و در طی چندین میلیون سال یکبار رخ می‌دهد. می‌تواند خیلی مهم باشد مخصوصا اگر عناصر منتقل شده به تعداد بسیار زیاد تکثیر شوند.

شواهدی در مورد انتقال افقی رتروترانسپوزون Ty1-copia بین دو گونه مگس سرکه دیده شده است اگر چه هنوز مدل این انتقال معلوم نیست، بدلیل آنکه رتروترانسپوزون‌های Ty1- copia فاقد توالی ژن env می‌باشند تصور می‌شود که خاصیت آلوده کنندگی نداشته باشند.

شواهد نشان می‌دهد که پارازیت‌های کنه ممکن است به عنوان یک حامل DNA بین دو گونه مگس سرکه عمل کنند. یک مدل محتمل دیگر جهت انتقال افقی رتروترانسپوزون‌ها از یک گونه گیاهی به گونه دیگر از طریق تلاقی‌های دور می‌باشد. چنین تلاقی‌هایی می‌تواند منجر به کاهش موقتی کنترل اپی ژنتیکی مثلاً ممانعت بیان عناصر متحرک شوند. از آنجائیکه بسیاری از گونه‌های گیاهی از پروسه‌های انتقال دانه گرده بصورت غیر اختصاصی استفاده می‌کنند (حشرات، باد)، معمولا تلاقی‌های نابارور بین گونه‌های مختلف گیاهان یک اتفاق معمولی است البته بندرت ممکن است که این تلاقی ها الوپلوئیدهایی را تشکیل دهند تا بدینوسیله رتروترانسپوزون‌ها در یک گونه تجمع پیدا کنند.

تلاقی‌های بین دو گونه مختلف منجر به ناباروری یا سقط جنین می‌گردد اما در بعضی موارد ممکن است که دو ژنوم از گونه‌های خیلی متفاوت (مثلا، ذرت و یولاف) در یک هسته تجمع یابند و سرانجام دسته کروموزومی یکی از والدین حذف شده اما انتقال رتروترانسپوزون‌ها از یک ژنوم به ژنوم دیگر در این بین انجام گیرد (۱۵، ۱۰، ۲۲).

نقش و کاربرد رتروترانسپوزون‌ها

در اکثر یوکاریوت‌ها تعداد بسیار زیادی از رتروترانسپوزون‌ها در نواحی هتروکروماتینی، سانترومر، تلومر و دیگر نواحی هتروکروماتینی کروموزوم‌ها قرار دارند که این توزیع آنها، یک نقش کارکردی و ساختاری را برای آنها بوجود آورده است. مثلاً نقش HET-A و TART (رتروترانسپوزون)، در بافرینگ و کوتاه سازی انتهای کروموزوم‌های مگس سرکه به خوبی معلوم گشته است. حفاظت خیلی دقیق گروه ویژه‌ای از این عناصر در همه نواحی سانترومری گراس‌ها نشان می‌دهد که این عناصر در

Archive of SID

عملکرد سانترومر نقش داشته و همچنین حضور آنها درنواحی تنظیمی ژن‌ها بیان می‌دارد که آنها نقش تنظیمی را در بیان ژن‌های خاص دارند. زیرا LTR رتروترانسپوزون‌ها دارای دو آغازگر است که الحاق آن در نزدیکی یک ژن خاص باعث تغییر الگوی بیان آن ژن می‌شود. نوترتیبی یکی دیگر از مزایای این عناصر برای ژنوم‌ها می‌باشد. در واقع مشخص شده که پدیده برخوردن اگزون‌ها (Exon shuffling) توسط این عناصر صورت گرفته، این عناصر از این طریق می‌توانند ژن‌های جدیدی را در طی پروسه تکامل ایجاد نمایند (۱۳؛۱۰؛۸). از این عناصر در بررسی‌های ملکولی مانند بررسی تنوع ژنتیکی، تهیه نقشه‌های ژنتیکی و یافتن ژن‌های جدید استفاده می‌شود (۳,۲,۱,٤,۵).

References

۱- رشیدی منفرد,س,نقوی م ر,۱۳۸۵, معرفی نشانگرهای ملکولی مبتنی بر رتروترانسپوزون‌ها, فصل نامه ژنتیک نوین ش ۶ و ۷ : ۲۶-۳۰.

۲- رشیدی منفرد س ، حسین‌زاده ع ه ،مردی م ، نقوی م ,پیرسیدی س م ,۱۳۸۶, ارزیابی تنوع ژنتیکی گندم دوروم با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزونی SSAP . مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی, زیر چاپ.

۳- رشیدی منفرد س ،مردی م ، نقوی م ,۱۳۸۶,تجزیه ارتباطی صفات زراعی با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزونیSSAP، AFLP ، SSR و EST-SSR در ژنوتیپ‌های بومی گندم دوروم, مجموعه مقالات پنجمین همایش ملی بیوتکنولوژی.

۴- رشیدی منفرد س,۱۳۸۶, بررسی تنوع ژنتیکی گندم دوروم با استفاده از نشانگرهای رتروترانسپوزونی SSAP، پایانامه کارشناسی ارشد دانشگاه تهران.

۵- رشیدی منفرد س ، مردی م ، حسین زاده ع ه ، نقوی م ,۱۳۸۶ تجزیه ارتباطی صفات زراعی با نشانگرهای رتروترانسپوزونی SSAP در گندم دوروم.فصل نامه ژنتیک نوین تحت داوری نهایی.

6-Antonio M, Lanacio M (2005) Retrovirus- like elements in plants.Recent Research Development of Plant Science.vol(3) : 1-10

7-Deininger PL, Moran JV, Batzer MA, Kazazian HH (2003) Mobile element and mammalian genome evolution. Current Opinion in Genetic & Development. Vol9130; 651-658

8-Errika RH, Gao X, Voytas DF (2004) The diversity of LTR retrotransposons. Genome Biology. Vol(5):225-231

9-Flavell RB (1986) Repetitive DNA and chromosome evolution in plants. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci .vol(312):227-242

10-Grzebelus, D (2006) Transposon insertion polymorphism as a new source of molecular markers. J. Fruit and Ornament. Plant Research 14: 21-29.

11-Kumar A, Bennetzen J. (1999) Plant retrotransposons. Annual Reviewe of Genetic. 33:479-532

12-Lodish H, Berk A, Zipursky AL, Matsudaira P, Baltimor D, Darnell J (2003) Molecular Cell Biology. 5th editions,W.H.Freeman . New york.

13-Nina F (2000) Transposons and genome evolution in plant. Proceedings of the National Academy of Sciences of USA.vol(97): 2002-2007

14-Pardue ML, Debarysh PG (2003) Retrotransposons provide evolutionarily robust non-telomerase mechanism to maintain telomers. Annual Reviewe of genetic. Vol(37):485-493

15-SanMiguel P, Tikhanov A, Jin YK, Motchoulskaia N, Zakharov D,Melake-Berhan A, Springer PS, Edwards KJ, Lee M, Avramova Z,Bennetzen JL:(1996) Nested retrotransposons in the intergenic regions of the maize genome. Science .vol(274):765-768.

16-Thomas R, Vassiliadis C, Vassiliadis M (2005)Phenotypic impact of repetitive DNA in flowering plants. New Phytologist. 168 (1): 71-80

17-Wilhelm M, Wilhelm FX (2001) Reverse transcription of retroviruses and LTR Retrotransposons. Cellular and Molecular Life Science. Vol(98):1246-1262

18-Wessler S(1996)Plant retrotransposons :turned by stress.Current biology.vol(6) 8:959-961

19-Wesselr S , Bureau TE, White SE (1995) LTR retrotransposons and MITE: important players in the evolution of plant genome. Current Biology .vol(5):814-821

20-Weaver R, Bert F (2005) Molecular Biology. Th Editions MCGRaw-Hill.774-803.

21.www.ncbi.nlm.nih.gov/.../mcb/ch9f12.gifLecture16Mobile DNA,RepetitiveDNA,DNA Fingerprinting

www.SID.ir