

STANISŁAWA M. ROGALSKA, ANNA KALINKA, MAGDALENA ACHREM,  
RENATA SŁOMIŃSKA-WALKOWIAK, LIDIA SKUZA i EWA FILIP

*Katedra Biologii Komórki, Wydział Nauk Przyrodniczych*

*Uniwersytet Szczeciński*

*Wąska 13, 71-415 Szczecin*

*e-mail: strog@univ.szczecin.pl*

*akali@op.pl*

*ubidcom@poczta.onet.pl*

*lidia\_skuza@poczta.onet.pl*

*ewabiol@poczta.onet.pl*

## GENETYCZNE ELEMENTY RUCHOME U ROŚLIN I INNYCH ORGANIZMÓW

### WSTĘP

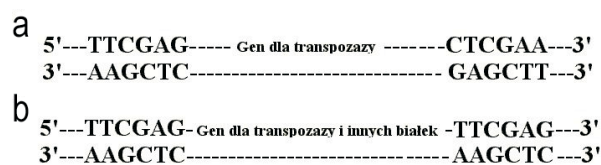
Podkreśla się wszechobecność elementów ruchomych w świecie materii żywej. Wykazano, że występują one niemal u wszystkich badanych pod tym kątem organizmów.

Genetyczne elementy ruchome lub inaczej elementy transpozycyjne, także zwane „skaczącymi genami”, są odcinkami DNA pewnej długości, zdolnymi do poruszania się z jednego miejsca do innego w obrębie genomu. W organizmach protokariotycznych mogą przemieszczać się z plazmidu na chromosom lub odwrotnie, a w eukariotycznych z jednej części chromosomu w inną lub z jednego chromosomu do drugiego.

U bakterii istnieją transpozony złożone i proste elementy transpozycyjne zwane IS – sekwencje insercyjne. Sekwencje insercyjne zawierają jedynie gen kodujący transpozazę i są oflankowane na końcach odwróconymi powtórkami sekwencji rozpoznawanymi przez transpozazę (Ryc. 1a). Inne elementy posiadają proste powtórki sekwencji nukleotydowych, a wewnątrz sekwencje kodujące inne białka oprócz transpozazy (Ryc. 1b).

Genetyczne elementy ruchome zostały odkryte przez genetyka Barbarę MCCLINTOCK w latach 40. podczas prowadzenia badań gene-

tycznych u kukurydzy (MCCLINTOCK 1948, 1950, 1952, 1961). Stwierdziła ona występowanie niestabilnych mutacji barwy aleuronu ziarniaków oraz szereg pęknięć i mutacji strukturalnych w chromosomach. McClintock wysnuła hipotezę, że w genomie badanych form istnieją ruchome elementy kontrolne, które



Ryc. 1. Schematyczna budowa transpozonu bakteryjnego.

a - element zawierający tylko gen dla transpozazy, zakończony odwróconymi powtórkami; b - element zawiera również geny kodujące inne białka, zakończony prostymi powtórkami.

wstawiają się w obszar określonego genu lub w jego okolice modyfikując tym samym działanie tego genu. Dodatkowo postulowała, że kon-

trone elementy ruchome zostały aktywowane stanem mieszańcowym badanych przez nią form kukurydzy (FEDOROFF i współaut. 1983). Przez wiele lat jej odkrycie nie zyskało uznania. Dopiero kiedy w latach 60. odkryto fakt, że mutacja u *Escherichia coli*, powodująca niezdolność do fermentacji galaktozy (Gal), jest efektem wstawienia *IS* w obszar genu *gal* przypomniano o odkryciu dokonany przez Barbarę MCCLINTOCK. Za to odkrycie przyznano jej nagrodę Nobla. W tym samym czasie podjęto szereg badań nad szczególną zdolnością bakterii do nabywania odporności na antybiotyki. Wykryto odcinki DNA poruszające się w obrębie genomu bakteryjnego i pomiędzy spokrewnionymi gatunkami bakterii, niosące ze sobą geny kodujące odporność na antybiotyki. Początkowo sądzono, że geny te są rzadkie i ulokowane na plazmidach. Tak było do r. 1974 kiedy to odkryto transpozony zawierające geny odporności na antybiotyki (HEFFRON 1983).

Przykładowo, transpozon *Tn3* zawierał gen odporności na ampicylinę (*Ap<sup>r</sup>*) (KOPECKO i COHEN 1975). Stwierdzono także obecność transpozonu *Tn3* przyłączonego do plazmidu pMB9, na którym znajdował się gen odporności na tetracyklinę (*Tc<sup>r</sup>*). Inny transpozon – *Tn103* jest zdolny do integracji z plazmidem, ale odłączenie się transpozonu nie jest możliwe, gdyż gen kodujący enzym resolwazę (*tnpR*) jest nieaktywny. *Tn103* nie posiada również genów odporności. Obecność transpozonu na plazmidzie pozwala mu na włączenie się do genomu – chromosomu bakteryjnego lub do innego plazmidu. Jeżeli transpozon znajduje się na plazmidzie, który zawiera czynnik koniugacyjny, wówczas ma szansę na przejście do innej bakterii.

Obecnie wiemy już, że genetyczne elementy ruchome występują u wszystkich organizmów, począwszy od bakterii, a na człowieku kończąc.

#### TRANSPOZONY PROTOKARIOTYCZNE

Genetyczne elementy ruchome protokariotów dzielą się na trzy grupy: klasę I, klasę II i klasę III.

Klasę I stanowią głównie krótkie sekwencje insercyjne *IS* (Ryc. 2). Są to krótkie odcinki DNA liczące od 800 do 2000 pz mające na końcach krótkie, odwrócone powtórki liczące 8-41 pz. Wewnątrz znajdują się sekwencje kodujące transpozazę, która rozpoznaje sekwencje terminalne i sekwencje docelowe w miejscu wstawienia.

Wstawienie i transpozycja *IS* może się odbywać według transpozycji replikatywnej lub konserwatywnej. W konserwatywnej element *IS* jest wycinany ze starego miejsca i stamtąd znika, a zostaje wstawiony do nowego miejsca. Natomiast w replikatywnej jest powielany w miejscu pierwotnym i kopia jest przemieszczana do nowego miejsca. Wszystkie elementy tej klasy mają wspólne cechy:

- niosą transkrypcyjne i translacyjne sygnały „stop”, te ostatnie w trzech otwartych ramkach odczytu, powodując spolaryzowane mutacje „w dół” genu;

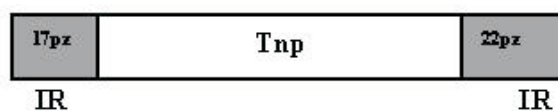
- na końcach mają odwrócone powtórki sekwencyjne, składające się z 16-41 pz, które tworzą struktury „pętli” w homodupleksach;

- insercja elementów *IS* jest losowa, ale niektóre z nich wymagają specyficznych sekwencji docelowych;

- *IS* występują w chromosomie bakteryjnym, ale też i w plazmidach F, gdzie są odpowiedzialne za tworzenie ras Hfr;

- większość transpozonów zawiera promotory, represory oraz antysensowy RNA, które regulują aktywność i częstość transpozycji;

- włączeniu *IS* towarzyszy duplikacja krótkiej sekwencji wokół miejsca wstawienia.

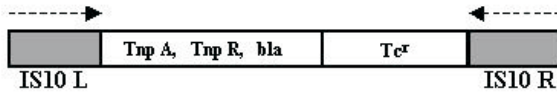


Ryc. 2. Struktura prostego elementu ruchomego IS10 składającego się z 1329 pz

*Tnp* - obszar kodujący enzym transpozazę.

Klasa II to transpozony złożone, mające na obu końcach moduły *IS*, których przykładem jest transpozon *Tn3*. Transpozon *Tn3* ma długość 4957 pz, na końcach posiada odwrócone powtórki 38 pz, zawiera również gen *tnpA* – kodujący transpozazę, *tnpR* – resolwazę i *bla* – laktamazę (Ryc. 3). Laktamaza nadaje bakterii odporności na antybiotyki zawierające w cząsteczce pierścień laktamowy. Jest ona zdolna hydrolizować pierścień laktamowy obecny w antybiotykach takich jak penicyliny. Po hydrolizie antybiotyk jest nieszkodliwy i bakteria może bez przeszkód rozwijać się w organizmie

gospodarza. *Tn3* integruje się z plazmidem i razem są przemieszczane do miejsca wstawienia. Jeżeli jednak nastąpi mutacja sekwencji *IS* lub

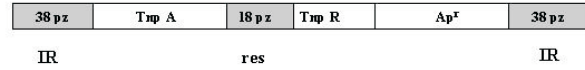


Ryc. 3. Struktura transpozonu złożonego *Tn3* zakończonego dwoma *IS*, liczącego 9300 pz.

$Tc^r$  – gen kodujący odporność na tetracyklinę; *Tnp A* – gen transpozazy; *Tnp R* – gen resolwazy; *bla* – gen lak-tamazy.

w genie *tnpR* kodującym resolwazę, to *Tn3* na zawsze pozostaje połączony z plazmidem. Resolwaza jest odpowiedzialna za rekombinację transpozonu w wewnętrzne miejsce wycięcia. Jest ono nazywane specyficznym miejscem rekombinacji, wymagającym krótkich, specyficznych sekwencji dwuniciowego DNA (ds DNA). Drugą grupą transpozonów są transpozony niezłożone (Ryc. 4), posiadające własne końcowe sekwencje powtórzone. Wewnętrzne sekwencje tych elementów stanowią geny potrzebne do transpozycji i geny warunkujące

odporność na antybiotyki lub inne czynniki stresowe (HEFFRON 1983, GRINDLEY i REED 1985).



Ryc. 4. Struktura transpozonu niezłożonego mającego na końcach *IR* – odwrócone powtórki.

*Tnp A* – gen kodujący transpozazę; *Tnp R* – gen kodujący resolwazę;  $Ap^r$  – gen kodujący odporność na antybiotyki  $\beta$ -laktamowe.

Klasa III obejmuje łagodne bakteriofagi *Mu* i *D108*. Oba fagi są w 90% homologiczne do siebie pod względem wyposażenia genetycznego. Fag *Mu*, zwany też *Mutator*, jest zdolny do wywoływania mutacji w komórce gospodarza dzięki swojej zdolności do wstawiania się losowo w każdy obszar genomu bakteryjnego. W przypadku Faga *Mu* odwrócone powtórki nie są umieszczone na końcach elementu, ale w pewnej odległości od nich. *Mu* liczy 38000 pz i jest zaliczany do największych transpozonów (SINGLETON i SAINSBURY 1993).

#### MECHANIZM TRANSPOZYCJI U PROTOKARIOTA

Transpozycja jest rzadkim zdarzeniem i zależy od fizykochemicznej kondycji komórki i elementu ruchomego. Jak już wcześniej wspomniano, może ona zachodzić jako transpozycja konserwatywna lub transpozycja replikatywna.

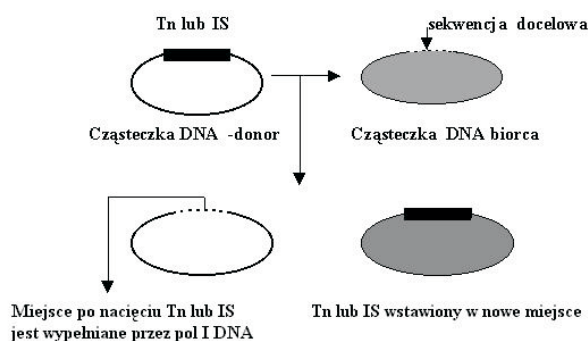
Transpozycja konserwatywna (Ryc. 5) polega na wycięciu elementu *IS* z cząsteczki donorowej DNA i wstawieniu jej do nowego miejsca w cząsteczce biorcy DNA. W efekcie po wycięciu *IS* pozostaje „dziura” w donorowej cząsteczce DNA, a docelowy DNA jest zduplikowany. Ten typ transpozycji wymaga obecności transpozazy, która wycina transpozon z donorowej cząsteczki DNA i nacina zygzakowato DNA w sekwencji docelowej. Następnie wstawia transpozon w nowe miejsce i liguje wolne końce DNA. Natomiast miejsce powstałe na skutek wycięcia transpozonu zostaje wypełnione nowymi sekwencjami zsyntetyzowanymi przez polimerazę I DNA i ligazę (HEFFRON 1993).

Transpozycja replikatywna (Ryc. 6) jest procesem dwustopniowym:

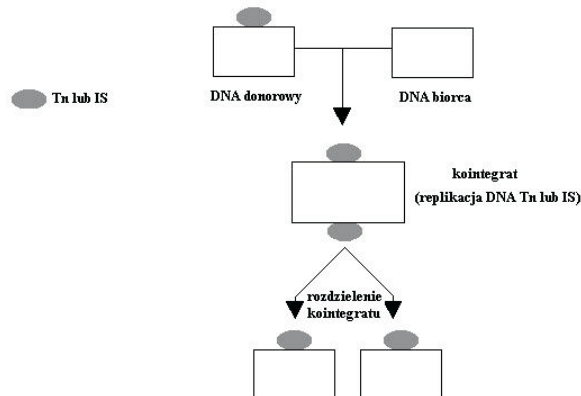
1 – formowany jest kointegrat, a DNA jest syntetyzowany poprzez widelki replikacyjne z obu końców transpozonu, dzięki czemu nie znika on z miejsca pierwotnego a pojawia się w nowym miejscu;

2 – transpozon jest wycinany z kointegratu.

Ten typ transpozycji wymaga działania dwóch kompleksów enzymatycznych – transpozazy i resolwazy. W pierwszym etapie transpozycji konieczna jest obecność nienaruszonych terminalnych odwróconych powtórek jako miejsc działania transpozazy i odpowiedniego miejsca wstawienia w docelowej cząsteczce DNA. Najprawdopodobniej miejscami rozpoznawanymi są sekwencje bogate w zasady A i T oraz drugorzędowa struktura DNA. Etap drugi charakteryzuje działanie resolwazy i konieczność istnienia nienaruszonego miejsca jej działania. Rozdzielenie transpozonów z kointegratu obejmuje rekombinację DNA (GRINDLEY i REED 1985, KLACKNER 1981).



Ryc. 5. Schemat transpozycji konserwatywnej  
Tn - transpozon, IS - sekwencja insercyjna.



Ryc. 6. Schemat transpozycji replikatywnej  
Tn - transpozon, IS - sekwencja insercyjna.

### GENETYCZNE ELEMENTY RUCHOME EUKARIOTÓW

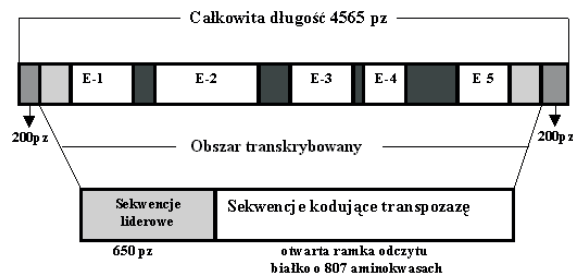
Elementy ruchome są stałymi rezydentami genomów eukariotycznych. Większość elementów ruchomych występuje jako sekwencje umiarkowanie powtarzalne o układzie rozproszonym, przy czym, różne rodziny elementów mogą stanowić znaczny procent genomu. Na przykład, w genomie ludzkim znajduje się około 36% sekwencji nukleotydowych ruchomych. Elementy ruchome dzieli się na dwie główne grupy zależnie od ich budowy i sposo-

bu rozprzestrzeniania się: transpozony i retrotranspozony (FLAVELL 1986, SMYTH 1991, GRANDBASTIEN 1992, HIROCHIKA i HIROCHIKA 1993, FLAVELL i współaut. 1997, HESLOP-HARRISON i współaut. 1997, KUMAR i współaut. 1997, LABRADOR i CORCES 1997, KUMAR i BENNETZEN 1999, LANGDON i współaut. 2000, TURCOTTE i współaut. 2001, VERHININ i współaut. 2002).

### TRANSPOZONY

Transpozonomi nazywa się elementy genetyczne o różnej długości DNA, z których każdy zawiera gen transpozazy, a na obu końcach jest oflankowany odwróconymi powtórkami sekwencji (TIRs), które są rozpoznawane przez transpozazę. Te dwa składniki (TIRs i transpozaza) są niezbędne do przemieszczania się elementów ruchomych tej klasy (SMYTH 1991, LABRADOR i CORCES 1997). Transpozony eukariotyczne replikują się za pośrednictwem DNA i tworzą rodziny spokrewnionych sekwencji. W obrębie jednej rodziny wyróżnia się najczęściej dwie klasy elementów: strukturalnie konserwatywne elementy autonomiczne, które mogą promować własne wycięcie i ponowne wstawienie do DNA genomu gospodarza oraz strukturalnie heterogenną grupę elementów nie autonomicznych, które są zdolne do przemieszczania się jedynie w obecności transpozazy kodowanej w układzie *trans* przez elementy autonomiczne. (SMYTH 1991, HUTTLEY i współaut. 1995, MCELROY i współaut. 1997).

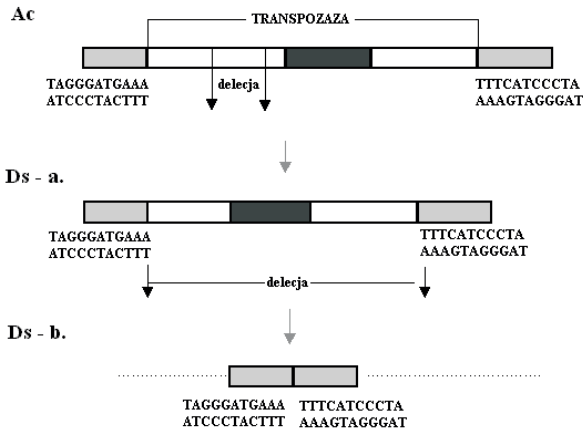
Najlepiej zostały poznane transpozony kukurydzy, u której występuje kilka ich rodzin. Jako pierwsza została opisana rodzina elementów *Ac/Ds* (*Activator/Dissociator*). Transpozon *Ac* (Ryc. 7) jest prostym elementem ruchomym,



Ryc. 7. Schematyczne przedstawienie transpozonu *Ac* występującego u kukurydzy.

tradycyjnie używanym do identyfikowania obecności genetycznych elementów rucho-

mych u innych roślin. Zawiera sekwencje nukleotydowe DNA kodujące białko-enzym transpozazę. Transpozaza rozpoznaje terminalne odwrócone powtórki elementu i w tym miejscu wycina go. Elementy *Ds* są wadliwą formą *Ac* (Ryc. 8), które zachowały terminalne pow-



Ryc. 8. Schemat powstawania elementu *Ds*.

tórki, ale straciły zdolność produkcji transpozazy w wyniku delecji wewnętrznych sekwencji. Badanie *Ds* potwierdziło istotną rolę sekwencji flankujących (o długości 200pz) w transpozycji. (SAEDLER i NEVERS 1985, LINARES i współaut. 1999, LANGDON i współaut. 2000). Sekwencje różnej długości i o różnym stopniu homologii podobne do *Ds* wykryto też u jęczmienia, pszenicy i żyta. W rodzaju *Zea* transpozony te występują w zbliżonej liczbie kopii i wykazują podobny stopień metylacji (MACRAE i CLEGG 1992). Oprócz elementów *Ac/Ds* poznano szereg innych transpozonów jak *En/Spm* (*Suppressor – mutator*) i *Mu* (*Mutator*) u kukurydzy (CHANDLER i HARDEMAN 1992, MACRAE i współaut. 1994, LISCH i współaut. 2001) oraz u ryżu rodzinę *CACTA* (typu *Spm/dSpm*), do której należy obecny w dużej liczbie kopii element *Tnr3* (Transposon of rice 3). W genomie ryżu obecne są też elementy *MITEs* (ang. miniature inverted-repeat transpo-

sable elements) – czyli miniaturowe elementy transpozycyjne odwróconych powtórek – należące do *MULEs* (LANGDON i współaut. 2000, TURCOTTE i współaut. 2001). Genomy ryżu i nicienia (*Coenorhabditis elegans*) zawierają tysiące kopii powtarzającego się motywu sekwencyjnego liczącego 400pz *MITEs*, oflankowanego odwróconymi powtórkami 15 pz jak następuje:

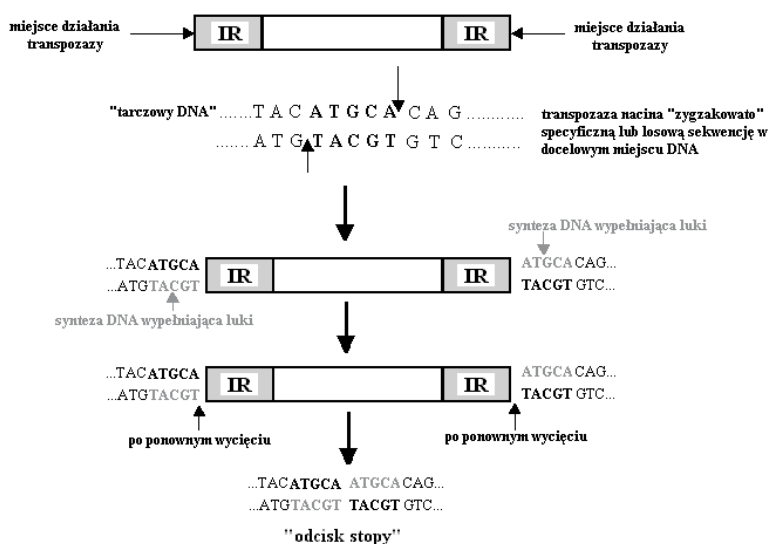
5' GGCCAGTCACAATGG .... 400pz  
powtórki..... CCATTGTGACTGGCC 3'  
3' CCGGTCAGTGTACC.....400pz  
powtórki .....GGTAACACTGACCGG 5'

Te elementy są zbyt małe, aby mogły kodować białko i dlatego nie wiadomo jak się przemieszczają do nowego miejsca. Prawdopodobnie większe transpozony kodują konieczny enzym i rozpoznają te same odwrócone powtórki i tym samym są odpowiedzialne za poruszanie się *MITEs*. *MITEs* znaleziono też w genomach człowieka, *Xenopus* i jabłoni. Inną klasą transpozonów są elementy *P*, występujące u muszki owocowej (*Drosophila melanogaster*). Występują rasy *P* muszek, mające dużo elementów *P* i rasy *M* muszek bez transpozonu *P*. *P* jest aktywny tylko w linii komórek płciowych, gdyż tylko w nich następuje prawidłowa obróbka potranskrypcyjna. Jeżeli samiec *P* zapłodni samicę *M*, to powstałe potomstwo z reguły jest bezpłodne dlatego, że w mieszańcach następuje gwałtowne uruchamianie transpozonów, tj. ich wycinanie i wstawianie. Wskutek tego następują mutacje genowe i mutacje strukturalne chromosomów. Prowadzi to do wytworzenia niefunkcjonalnej spermy i komórek jajowych, a w konsekwencji do niepłodności. Odwrotna krzyżówka nie daje takich efektów. Można przypuszczać, że w rasie *M* w cytoplazmie znajduje się czynnik uruchamiający transpozycję, a w rasie *P* tego czynnika nie ma. Obecnie prawie wszystkie populacje mają element *P*, a tylko stare, laboratoryjne hodowle muszek są pozbawione tego elementu i są rasami *M* (WATSON i współaut. 1992).

#### MECHANIZM PORUSZANIA SIĘ TRANSPOZONÓW

Generalnie transpozony poruszają się w genomie za pomocą mechanizmu „wyciąć-wkleić” (Ryc. 9). Wycięciu i ponownej integracji ulega zatem jeden i ten sam element. Podczas insercji elementu przy obu końcach TIRs powstają krótkie duplikacje sekwencji geno-

mu (TSDs). Jest to spowodowane tym, że miejsca nacięć w obu niciach DNA nie znajdują się naprzeciw siebie, lecz „mijają” się o kilka nukleotydów. Po wstawieniu transpozonu ubytki sekwencji genomu są uzupełniane (Ryc. 10). Transpozaza formuje kompleks z DNA transpo-

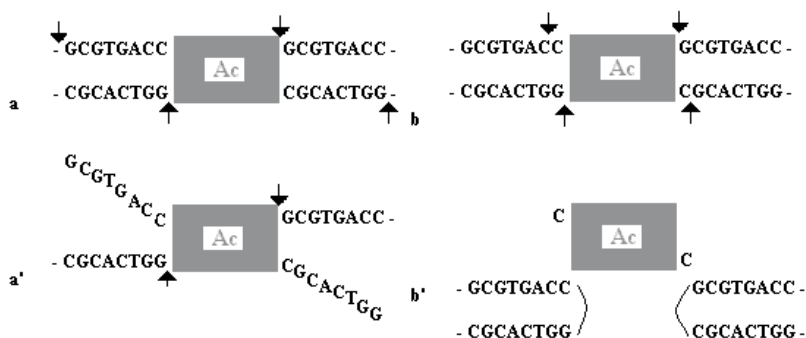


Ryc. 9. Schematyczne przedstawienie wycinania i wstawiania transpozozonu.

W miejscach odwróconych powtórek, enzym transpozaza wycina element; transpozaza rozpoznaje sekwencje specyficzne (lub losowe) w docelowej cząsteczce DNA i nie pozostawiając lepkie końce; wstawi transpozon a pozostałe luki w nici DNA są wypełniane nowosyntetyzowanym odcinkiem DNA przez pol DNA i ligowane przez enzym ligazę, i powstają proste powtórki, które po ponownym wycięciu transpozozonu są „odciskiem stopy”.

zonu, który jest przenoszony do docelowego miejsca insercji, gdzie następuje kowalencyjne połączenie końca 3' elementu do naciętego

nego typu transpozozonu (SAEDLER i NEVERS 1985, MCRAE i CLEGG 1992, CHATTERJEE i STARLINGER 1995, SCOTT i współaut. 1996,



Ryc. 10. Modele wycięcia transpozozonu Ac wstawionego z allelu wx-m5.

Transpozon oflankowany TSDs o długości 8bp a i a' to model zaproponowany przez SAEDLERA i NEVERSA 1985, transpozaza indukuje nacięcia w odległości 8 bp (zaznaczone strzałkami); b i b' to model zaproponowany przez COENA i współaut. 1985, transpozaza dokonuje nacięcia w odległości 1 bp i pozostawia kowalencyjnie zamknięte końce DNA (struktura zapinki) w miejscu wycięcia.

DNA genomu. Większość elementów pozostawia po wycięciu ślad, tzw. „odcisk stopy” (ang. footprints), który jest charakterystyczny dla da-

LABRADOR i CORCES 1997, SCHMIDT 1999, GORBUNOVA i LEVY 2000).

## RETROTRANSPOZONY

Retrotranspozony (Tabela 1) są klasą elementów ruchomych, której cechą charakterystyczną jest to, że replikują się za pośrednictwem RNA. Nie są wycinane, pozostają w da-

nym miejscu w genomie. Element ulega transkrypcji i na matrycy w ten sposób powstałego RNA enzym, odwrotna transkryptaza, syntetyzuje kopię DNA, która następnie może ulec in-

Tabela 1. Przykłady retrotranspozonów u różnych organizmów.

NAZWA ELEMENTU	GRUPA	ORGANIZM	LOKALIZACJA	ROZMIAR (kb)	PRZYBLIŻONA ILOŚĆ KOPII W GENOMIE
<i>Athila</i>	Ty3-gypsy	<i>A. thaliana</i>	obszar przycentromerowy	10,5	30
<i>Athila-1-1</i>	Ty3-gypsy	<i>A. thaliana</i>		12,0	730
<i>Bagy-2</i>	Ty3-gypsy	<i>Hordeum</i>		10,0	
<i>BARE-1</i>	Ty1-copia	<i>Hordeum</i>	rozproszone	12,1	50.000-70.000
<i>Bilby</i>	Ty3-gypsy	<i>Secale</i>	centromer	3,4	
<i>BIS-1</i>	Ty1-copia	<i>Hordeum</i>	euchromatyna	6,5	
<i>Bs1</i>	Ty1-copia	<i>Zea mays</i>		3,2	1-5
<i>Cereba</i>	Ty3-gypsy	<i>Hordeum</i>	centromer	10,0	1.500
<i>Cin1</i>	LTR-R.	<i>Zea mays</i>		0,69	1.000
<i>Cin4</i>	LINEs	<i>Zea mays</i>		1-6,8	50-100
<i>Cinful-1</i>	Ty3-gypsy	<i>Zea mays</i>		8,6	1.000
<i>copia</i>		<i>Drosophila melanogaster</i>	euchromatyna I heterochromatyna		10-100
<i>Cyclops-2</i>	Ty3-gypsy	<i>Pisum</i>	rozproszone	12,5	1.000
<i>Del2</i>	LINEs	<i>Lilium</i>	rozproszone	4,5	250.000
<i>Grande-1</i>	Ty3-gypsy	<i>Zea mays</i>	rozproszone	13,5	1.300
<i>HeT-A</i>	Non-LTR	<i>Drosophila melanogaster</i>	telomery	6,0	
<i>IFG</i>	Ty3-gypsy	<i>Pinus radiata</i>		5,9	10.000
<i>L1 Hs</i>	LINEs	naczelne		6,5	$10^3 - 10^5$
<i>L1 Md</i>	LINEs	gryznie		7,0	$10^3 - 10^5$
<i>OARE-1</i>	Ty1-copia	<i>Avena</i>		8,5	10.000
<i>Opie-1</i>	Ty1-copia	<i>Zea mays</i>	rozproszone (między genami)	8,7	30.000
<i>P5</i>	Ty1-copia	<i>Sclerospora graminicola</i>		0,225	30-100
<i>PREM-2</i>	Ty1-copia	<i>Zea mays</i>	rozproszone	9,5	10.000
<i>p-SINE1</i>	SINEs	<i>Oryza</i>		0,125	100
<i>Rigy-2</i>	Ty3-gypsy	<i>Oryza</i>		10,0	
<i>RIRE3</i>	Ty3-gypsy	<i>Oryza</i>		10,5	10
<i>Stonor</i>	Ty1-copia	<i>Zea mays</i>			30-40
<i>SI<sub>Bn</sub></i>	SINEs	<i>Brassica napus</i>	rozproszone	0,17	500
<i>Tac1</i>	Ty1-copia	<i>Iguana</i>			100

tegracji z genomem. Jest to klasa elementów ruchomych bardzo zróżnicowanych, przede wszystkim dlatego, że odwrotna transkryptaza nie ma właściwości polimerazy, a mianowicie nie potrafi sprawdzić czy jest czytana prawidłowo ramka odczytu. W wyniku tego stwierdza się cały szereg substytucji i delecji zasad w czasie syntezy DNA na matrycy RNA (GRANDBASTIEN 1992, KUMAR i BENNETZEN 1999, TURCOTTE i współaut. 2001). Retrotranspozony dzieli się na dwie główne grupy: retrotranspozony pochodzenia wiralnego i retrotranspozony niewiralne. Retrotranspozony po-

chodzenia wiralnego są spokrewnione z retrowirusami. Wszystkie one kodują swoją własną odwrotną transkryptazę i zawierają długie terminalne powtórki — LTRs zakończone 5' TG.....CA 3'. Takimi elementami są retrowiralne *Ty* u drożdży, *copia* u muszki owocowej, *Bs1* u kukurydzy, *LINEs* i pochodne *LINEs* u ssaków, *I* u muszki owocowej, *Cin4* u kukurydzy, *Wis-2* u pszenicy, *Ta1* u *Arabidopsis*, *Tnt1* u tytoniu, *Tst1* u ziemniaka, *Tns1* u lucerny, *PDR* u grochu, *BARE-1* u jęczmienia, itd.

Wśród LTR retrotranspozonów, ze względu na kolejność genów kodujących określone

białkowe produkty, wyróżnia się dwie główne grupy: *Ty1-copia* i *Ty3-gypsy*. Wśród sekwencji kodujących znajdują się domeny *gag* i *pol*. W obrębie obszaru *gag* znajduje się gen kodujący białko podobne do białka kapsydu, natomiast obszar kodujący kilka białek (*pol*) zawiera geny proteazy (*prot*), integrazy (*int*), odwrotnej transkryptazy (*rt*) i Rnazy H (*Rnase H*). Elementy z grupy *Ty1-copia* mają następującą kolejność tych genów: LTR-*gag-prot-int-rt-RnaseH*-LTR, natomiast *Ty3-gypsy*: LTR-*gag-prot-rt-RnaseH-int*-LTR. Oprócz tych sekwencji LTR retrotranspozony zawierają także m.in. obszary: *PBS* (ang. primer binding sites), *PPT* (*poly-purine tracts*), *NA* (*nuclei acid binding moiety*), *IR* (ang. inverted terminal repeats), *DR* (ang. flanking target direct repeat), *5' UTR* (ang. 5' untranslated region), *3' UTR* (ang. 3' untranslated region). Elementy grupy *Ty3-gypsy* są strukturalnie podobne do retrovirusów (FLAVELL i współaut. 1997, SUONIEMI i współaut. 1998, KUMAR i BENNETZEN 1999). W odróżnieniu od elementów, które posiadają LTRs, elementy *LINEs* (ang. long interspersed repeated elements) nie posiadają tych sekwencji. *LINEs* znaleziono w ludzkim genomie jako rozproszone, umiarkowanie powtórzone sekwencje. Występują też u różnych innych gatunków ssaków. Najliczniej występujący element *LINE* u człowieka jest nazywany *L1* i jest reprezentowany w liczbie ponad pół miliona kopii. Jego wielkość waha się od 1000 do 6000 pz. Oprócz *L1* jest około 270 000 kopii elementu *L2*. Łącznie elementy te stanowią 16-17% genomu. Element *L1* ma dwie otwarte ramki odczytu. ORF-1 ma długość 1137 pz i jest homologiczna do sekwencji *gag* wirusów. ORF-2 ma długość 3900pz i koduje odwrotną transkryptazę. Przykładem tej klasy elementów u roślin jest retropon *Cin4* u kukurydzy i *del2* u lilii.

Retrotranspozony niewiralne obejmują grupę retroponów zwanych *SINEs* (ang. short interspersed elements) i pseudogeny procesowane. W genomie ludzkim *SINEs* są

rozproszone i występują w liczbie ponad miliona kopii, stanowiąc około 10% całego genomu. *SINEs* nie mają sekwencji kodujących odwrotną transkryptazę i wykorzystują enzym kodowany przez inne elementy. Większość *SINEs* należy do rodziny sekwencji *Alu*, które nazwano od enzymu restrykcyjnego *AluI*. Członkowie tej rodziny mają wielkość 150-500 pz i wykazują 80% konserwatywności sekwencyjnej. Na końcu 3' znajduje się sekwencja poli(A) i miejsce restrykcyjne *AluI*. Sekwencje *Alu* występują pomiędzy genami i w intronach, przeciętnie co 6000 pz. Sekwencje *Alu* wykazują sekwencyjne podobieństwo do cytoplazmatycznego 7SL RNA o 294 nukleotydach, który tworzy część rybonukleinową w cząsteczce rozpoznającej sygnał białkowy – SRP. Podobieństwo to jest tak duże, że nie ulega wątpliwości, iż *Alu* mogą pochodzić od tego typu RNA. Uważa się, że *Alu* powoduje przynajmniej jedną chorobę dziedziczną poprzez wstawienie się w obszar genu *nf1* i inaktywowanie go. Choroba ta nazywa się neurofibroma, a objawia się tworzeniem guzów w tkance nerwowej. Inne sekwencje *SINEs* są kopiami pseudogenów tRNA oraz snRNA (sn – ang. small nuclear). Pseudogenów tRNA jest około 400000 kopii w ludzkim genomie i zwane są *MIRs* (ang. mammalian-wide interspersed repeats). Są one bardzo stare ewolucyjnie, prawdopodobnie były amplifikowane we wczesnej fazie ewolucji ssaków i są obecne w genomach torbaczy i stekowców. W genomie występują również mRNA bez intronów, ale z sekwencją poli(A) na końcu 3', co sugeruje, że pochodzą od cząsteczek wstawionych w genom po obróbce potranskrypcyjnej. Takie geny są niefunkcjonalne i nazywają się procesowanymi pseudogenami. Pseudogeny procesowane są oflankowane prostymi powtórkami i dlatego zalicza się je do elementów ruchomych (DINOCERA i SASAKI 1990, FLAVELL 2001).

#### RETROTRANSPOZONY ROŚLINNE

Retrotranspozony roślinne (Tabela 2) wykazują organizację uderzająco podobną do retrovirusów, jednak nie są infekcyjne i zazwyczaj nie zawierają genu *env* (VICIENT i współaut. 2001). Retrotranspozony są obecne nie tylko w genomie jądrowym, ale również w mitochondrialnym (np. u *Arabidopsis*) (KISHII

i współaut. 2001). W przypadku zbóż retrotranspozony zajmują często bardzo dużą część genomu. Zlokalizowane są w różnych jego partiach, w zależności od typu elementu ruchomego (KATSIIOTIS i współaut. 1996, HESLOP-HARRISON i współaut. 1997, PEARCE i współaut. 1997, KUMAR i BENNETZEN 1999). U roślin naj-



Tabela 2. Przykłady retrotranspozonów występujących u zbóż.

<i>Ty1-copia</i>			
NAZWA	WYSTĘPOWANIE	CHARAKTERYSTYKA	LOKALIZACJA
<i>BARE-1</i>	Jęczmień, pszenica, żyto	Układ sekwencji kodujących białka typowy dla tej grupy retrotranspozonów; obszar kodujący oflankowany sekwencjami LTRs, w obrębie których znajdują się dwa promotory; element ten jest aktywny transkrypcyjnie	Rozproszone w genomie poza głównymi obszarami heterochromatynowymi
<i>BIS-1</i>	Jęczmień, pszenica, żyto, owies, sorgo	Stanowi około 5% genomu jęczmienia; sekwencje kodujące oflankowane LTRs	Rozproszone w genomie oprócz obszarów heterochromatynowych
<i>Bs1</i>	kukurydza	Występuje w liczbie około 1-5 kopii w haploidalnym genomie	-
<i>Grande</i>	kukurydza	Występuje w liczbie około 10 000 kopii w haploidalnym genomie	-
<i>HopScotch</i>	kukurydza	Występuje w liczbie około 2-6 kopii w haploidalnym genomie	-
<i>Huck</i>	kukurydza	Występuje w liczbie około 10 000 kopii w haploidalnym genomie	-
<i>Ji</i>	kukurydza	Występuje w liczbie około 10 000 kopii w haploidalnym genomie	-
<i>Magellan</i>	kukurydza	Występuje w liczbie około 4-8 kopii w haploidalnym genomie	-
<i>OARE-1</i>	owies	Należą do podgrupy <i>BARE-1</i> i wykazują duże podobieństwo do <i>WIS-2-1A</i> ; obszar kodujący oflankowany LTRs zawiera jedną ORF z konserwatywnymi dla <i>Ty1-copia</i> domenami; występuje w liczbie kopii ok. 10 000 na haploidalny genom	Rozproszone w genomie poza głównymi obszarami heterochromatynowymi
<i>R10hvcop</i>	Jęczmień, pszenica, żyto, owies, kukurydza	Wykazuje podobieństwo do <i>BARE-1</i> i <i>WIS-2-1A</i> ; jest najprawdopodobniej częścią retrotranspozonu; występuje w dużej liczbie kopii	Rozproszone w genomie
<i>Stonor</i>	kukurydza	Defektywny element, zawiera delekcję części kodujących; zawiera długi obszar liderowy nie ulegający translacji; występuje w liczbie około 30-40 kopii w haploidalnym genomie	-
<i>WIS-2-1A</i>	Pszenica, jęczmień, żyto, owies	Wewnętrzna domena kodująca białka oflankowana bardzo długimi LTRs	Rozproszone w genomie poza głównymi obszarami heterochromatynowymi
<i>Ty3-gypsy</i>			
<i>Bagy-2</i>	jęczmień	Domena wewnętrzna typowa dla grupy <i>Ty3-gypsy</i> ; cechą charakterystyczną jest obecność na końcu 3' tej domeny obszaru <i>env</i> ; retrotranspozon aktywny transkrypcyjnie; występuje w liczbie kopii około 10 000 na haploidalny genom	-
<i>Bilby</i>	żyto	Wykazuje podobieństwo do elementów cereba	Centromer
<i>CCS1 i Sau3A9</i>	Pszenica, żyto, jęczmień, kukurydza, ryż	Elementy te są prawdopodobnie częściami retrotranspozonu cereba – <i>Sau3A9</i> zawiera jedną ORF, której sekwencja wykazuje duże podobieństwo do genu <i>int</i> , natomiast sekwencje <i>CCS1</i> stanowią najprawdopodobniej LTRs cereba	Centromer; nie są rozmieszczone równomiernie w całym centromerze; <i>CCS1</i> występują z około dwa razy większą częstotliwością niż <i>Sau3A9</i>
<i>cereba</i>	jęczmień	Zawiera domenę kodującą wszystkie białka w układzie charakterystycznym dla <i>Ty3-gypsy</i> ; występuje w liczbie około 200 elementów na każdy centromer	Centromer
<i>crwydryn</i>	Zboża m. in. Kukurydza- (element <i>CentA</i> ), ryż- (element <i>RCB11</i> )	Prawdopodobnie elementy należące do tej rodziny są formami ancestralnymi wobec wszystkich innych retrotranspozonów obecnych w centromerach zbóż	Centromer
<i>Rigy-2</i>	ryż	Domena wewnętrzna typowa dla grupy <i>Ty3-gypsy</i> ; cechą charakterystyczną jest obecność na końcu 3' tej domeny obszaru <i>env</i>	-
<i>Tail</i>	pszenica	Występuje w liczbie około 9 000 kopii w haploidalnym genomie	Centromer
<i>LINEs</i>			
<i>BLIN</i>	jęczmień	Zawiera wiele mikro- i makrosatelitarnych sekwencji przy końcu 5'; element ten zawiera dwie zdegenerowane ORFs; jego wstawienie powoduje powstanie TSDs o długości 16pz w miejscu insercji	-
<i>Cin4</i>	kukurydza	Obecny w liczbie kopi około 50 – 100 na haploidalny genom; element ten zakończony jest ogonem poli(A)	-
<i>SINEs</i>			
<i>pSINE1</i>	ryż	Występuje jako 125pz insercja w genie <i>waxy</i> oflankowana 14pz TSDs	-

liczniej są reprezentowane retrotranspozony należące do grupy *Ty1-copia*. (Tabela 2). Występują w bardzo zróżnicowanej liczbie kopii od dziesiątek tysięcy po kilka kopii na genom (MARILLONNET i WESSLER 1998). Odnaczają się wielką różnorodnością przy czym większość sekwencji z tych retrotranspozonów jest nieaktywnych. (SAEDLER i NEVERS 1985, ABBO i współaut. 1995, MONTE i współaut. 1995, KATSOTIS i współaut. 1996, FLAVELL i współaut. 1997, PARDUE i współaut. 1997,

PEARCE i współaut. 1997, MARILLONNET i WESSLER 1998, LINARES i współaut. 1999, KIMURA i współaut. 2001, MUNIZ i współaut. 2001).

Drugą grupą jest *Ty3-gypsy*, której retrotranspozony bardzo licznie występują w centromerach zbóż (MACRAE i CLEGG 1992, SUONIEMI i współaut. 1998, KUMAR i BENNETZEN 1999, LANGDON i współaut. 2000, FRANCKI 2001, FUKUI i współaut. 2001, HUDAKOVA i współaut. 2001, KISHII i współaut. 2001, KO i współaut.

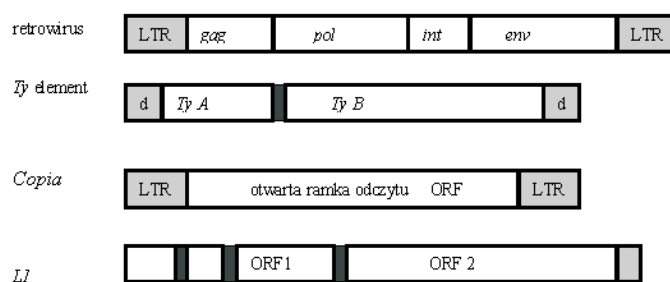
2002). Elementy SINEs (ang. short interspersed repetitive elements) i LINEs (ang. long interspersed repetitive elements) również występują w dość znacznej liczbie kopii u roślin posiadających duże genomy. *LINEs* są wszechobecne u roślin, natomiast *SINEs* wykryto u kilku okrytozalążkowych, jednak po-

dejrzuwa się, że mogą występować powszechnie u roślin (GRANDBASTIEN 1992, SCOTT i współpracownicy 1996, KUMAR i współpracownicy 1997, KUMAR i BENNETZEN 1999, SCHMIDT 1999, VERHININ 2002).

#### AKTYWNOŚĆ ELEMENTÓW RUCHOMYCH

Jak dotąd wykazano, że roślinne retrotranspozony są aktywne tylko w bardzo specyficznych sytuacjach, takich jak specyficzne stadia rozwojowe, oraz w warunkach stresu biotycznego i abiotycznego. Ponadto promotory ekspresji mogą ulegać indukcji np. pod wpływem ranienia rośliny, podczas reakcji obronnej przed patogenami i innych typów stresu fizycznego i chemicznego. Na przykład silnie transkrybowany w normalnych warun-

kazały także, że aktywne są elementy ruchome *Bs1* kukurydzy i *WIS-2-1A* pszenicy. W przypadku *Bs1* aktywność może wystąpić podczas stresu wywołanego infekcją wirusa. Infekcję tym wirusem określa się jako mutageniczną. Rola wirusa w katalizowaniu transpozycji mogłaby polegać na stymulowaniu bezpośrednio lub pośrednio transkrypcji *Bs1*. *WIS-2-1A* tylko w pewnych okolicznościach może być aktywowany w układzie *trans*. Natomiast zna-



Ryc. 11. Schematyczne przedstawienie wiralnej rodziny retropozonów, mających terminalne powtórki i odwarte ramki odczytu.

kach wzrostu rośliny jest *BARE-1* u pszenicy, jęczmienia i żyta. Interesujące, że u owsa jest tylko nieznacznie aktywny. Wiadomo, że ekspresja *OARE-1* jest intensywnie indukowana raniem tkanki roślinnej, światłem UV, kwasem jasmonowym i salicylowym. *OARE-1* był także silnie aktywowany podczas infekcji *Puccinia coronata*. Wykazano także, że jest on silnie aktywowany we wczesnej (niespecyficznej) fazie obrony przed patogenami, a słabo w późniejszej fazie (specyficznej). Analizy wy-

nych jest tylko kilka roślinnych *LINEs* i *SINEs*, które są transkrypcyjnie aktywne i to zazwyczaj na bardzo niskim poziomie, większość jest „cicha” i defektywna. (JOHNS i współpracownicy 1985, FIGUEIRAS i współpracownicy 1991, GRANDBASTIEN 1992, MACRAE i współpracownicy 1994, MONTE i współpracownicy 1995, HESLOP-HARRISON i współpracownicy 1997, JAASKELAINEN i współpracownicy 1999, SCHMIDT 1999, KIMURA i współpracownicy 2001, MUNIZ i współpracownicy 2001).

#### MIEJSCA INSERCJI

Istnieją dowody, na to że przynajmniej niektóre rodziny elementów ruchomych wykazują pewne preferencje w stosunku do miejsc insercji w niektóre obszary genomu. Prawdopodobnie elementy ruchome ewoluowały w kierunku transpozycji w specyficzne obszary

chromosomów roślin, takich jak przerwy międzygenowe i inne powtarzalne sekwencje, gdyż w ten sposób nie dochodziło do mutowania genów (CHANDLER i HARDEMAN 1992). Istnieją dowody, że roślinne retrotranspozony preferują miejsca zlokalizowane w dystalnym

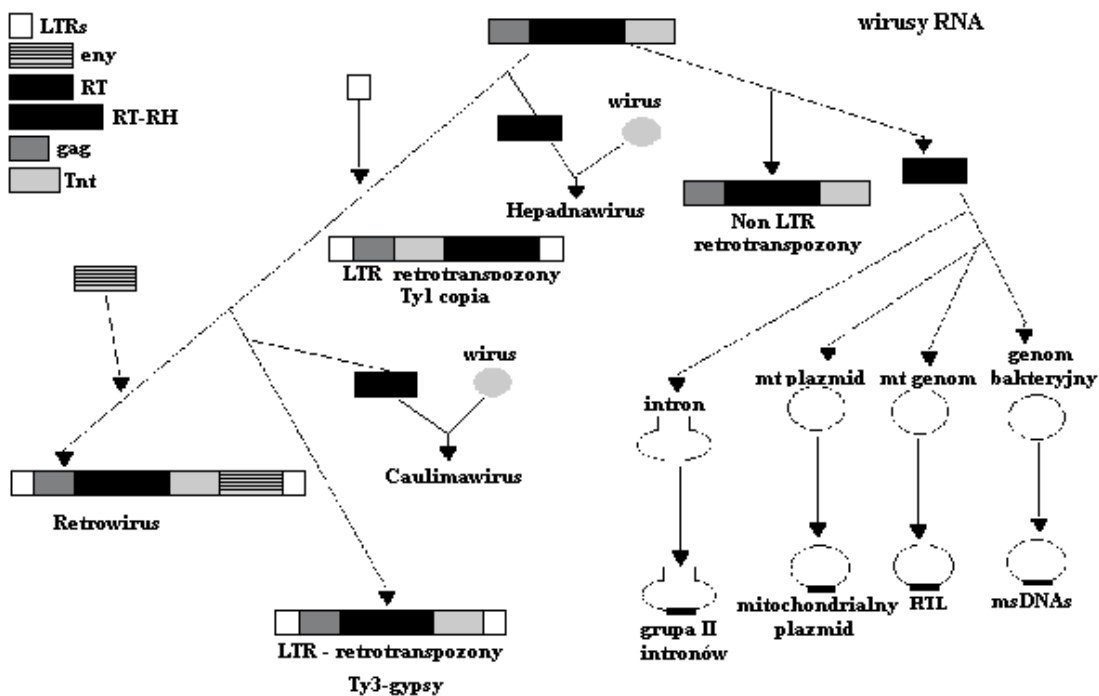
obszarze chromosomów. I rzeczywiście, w przypadku *BARE-1* to właśnie dystalne miejsca chromosomu częściej służą jako miejsca insercji. Wykazano, że docelowe miejsca insercji preferowane przez *Ty1* i *Ty3* zależą od polimerazy III i towarzyszących czynników transkrypcyjnych. W obszarze heterochromatyny konstytutywnej kukurydzy, zwanym „knob”, znajdują się przedstawiciele co najmniej 3 rodzin retrotranspozonów: *Grande*, *Zeon1*, *PREM2*, które stanowią około 30% obszaru. U ryżu zidentyfikowano wiele elementów ruchomych w nie kodującym obszarze genów. Wiele retrotranspozonów zbóż preferencyjnie integruje w obszar centromerów. Rodzina retroelemen-

tów, która dała początek wszystkim centromerowym retrotranspozonom prawdopodobnie „wynała” mechanizm transpozycji jedynie w ten obszar genomu, mimo że jest on niezwykle zmienny (MONTE i współaut. 1995, SUONIEMI i współaut. 1996, HESLOP-HARRISON i współaut. 1997, KUMAR i współaut. 1997, PEARCE i współaut. 1997, ANANIEV i współaut. 1998; KUBIS i współaut. 1998, PRESTING i współaut. 1998, KOPREK i współaut. 2000, LANGDON i współaut. 2000, SANDHU i GILL 2002, HUDAKOVA i współaut. 2001, TURCOTTE i współaut. 2001).

### REGULACJA TRANSPOZYCJI

Obecnie sądzi się, że transpozycja i retrotranspozycja w obrębie genomu są regulowane, zarówno przez pewne czynniki regulacyjne rośliny, jak i czynniki (sekwencje regulatorowe) samego elementu ruchomego. Fakt, że elementy poruszają się sporadycznie i nieprzewidywalnie sugeruje istnienie ścisłej regulacji ich transpozycji w genomie gospodarza. Istnienie złożonego systemu regulacji wskazuje, że genomy roślin i elementy ru-

chome są ze sobą powiązane ewolucyjnie od długiego czasu. Genom może ograniczać mobilizację elementów ruchomych, np. na poziomie transkrypcji, tkankowo-specyficznej ekspresji, obróbki RNA i białek, gromadzenia wiralnych cząstek, odwrotnej transkrypcji, oddziaływań białko-białko czy integracji DNA. Regulacja transpozycji jest specyficzna dla każdego elementu.



Ryc. 12. Schemat ewolucyjnego pochodzenia retroelementów na podstawie analizy sekwencji odwrotnej transkryptazy (wg XIONGA i EICKBUSA 1990).

LTR – długie terminalne powtórki; Int – sekwencje integrazy; RT-RH – sekwencje odwrotnej transkryptazy i Rnazy H; env – sekwencje kodujące białko kapsydu.

Inaktywacja transkrypcji poprzez heterochromatynizację lub metylację DNA elementów jest też sposobem ograniczenia ich negatywnego wpływu na gospodarza. Okazało się też, że cząsteczki transpozazy są zdolne do wzajemnych interakcji przez formowanie oligomerów, które są nieaktywne w procesie transpozycji. Istnieje pewne optymalne stężenie enzymu, które powoduje osiągnięcie najwyższego poziomu prawdopodobieństwa wycięcia. Dalszy wzrost stężenia transpozazy powoduje uruchomienie mechanizmów inhibicyjnych. Inne mechanizmy, także prowadzące do zmniejszenia liczby kopii elementów ruchomych, wykryto u kukurydzy. Zidentyfikowano mianowicie koliste, pozachromosomowe transpozony *Ac*, które nie mogą integrować z genomem. Innym, bardzo powszechnym mechanizmem ograniczania liczby aktywnych retrotranspozonów jest insercja elementów we wcześniej wstawio-

ne kopie, co powoduje inaktywację tych wcześniej wstawionych retroelementów. Wiadomo także, że duży wpływ na aktywność transpozycji LTR retrotranspozonów mają różne stresowe warunki środowiska. Stres indukuje promotory transkrypcji znajdujące się w obszarze LTRs, a tym samym wpływa na transkrypcję i częstość transpozycji. (SAEDLER i NEVERS 1985; MACRAE i CLEGG 1992; HIROCHIKA i HIROCHIKA 1993; HUTTLEY i współaut. 1995; SCOTT i współaut. 1996; KUMAR i współaut. 1997; LABRADOR i CORCES 1997; MCELROY i współaut. 1997; MARILLONNET i WESSLER 1998; HEINLEIN 1996; JAASKELAINEN i współaut. 1999; SCHMIDT 1999; GORBUNOVA i LEVY 2000; KOPREK i współaut. 2000; VICIENT i współaut. 2001; SANHU i GILL 2002; SOLIS i współaut. 1999; TAKUMI i współaut. 1999a, b).

#### POCHODZENIE I EWOLUCJA ELEMENTÓW RUCHOMYCH

Generalnie uważa się, że historia ewolucji elementów ruchomych jest bardzo długa, a ich pochodzenie nie jest znane. Transpozony *Ac* są najprawdopodobniej bardzo starymi komponentami genomu kukurydzy, przy czym pochodzenie ich nie jest znane. Znaczące było odkrycie, że *Ac* występuje u *Pennisetum glaucum* – trawy, która dzieliła ostatniego wspólnego przodka z *Zea* 25–42 mln lat temu. Ponieważ obecnie gatunki te nie wymieniają genów, a horyzontalny transfer jest mało prawdopodobny przyjmuje się, że *Ac* jest obecny w rodzinie traw od minimum 25 mln lat. Pozwala to spekulować, że *Ac* może być szeroko rozprzestrzeniony u traw, a nawet u wszystkich roślin jednoliściennych (MACRAE i CLEGG 1992, MACRAE i współaut. 1994). Mimo, że istnieją pewne dowody wskazujące na możliwość horyzontalnego transferu retrotranspozonów u roślin, to jednak wertykalne dziedziczenie wydaje się być najczęstszym mechanizmem transmisji. Ewentualny horyzontalny transfer mógłby nastąpić dzięki pośrednictwu patogenów roślinnych, endopasożytów lub innych elementów posiadających gen *env* (SMYTH 1991, HUTTLEY i współaut. 1995, FLAVELL i współaut. 1997, KUMAR i współaut. 1997, MUNIZ i współaut. 2001). Każda linia transpozonów, która zaprzestanie transpozycji ulega ostatecznie zmianom mutacyjnym i staje się nieodwracalnie nieaktywna. Zdolność do przemieszcza-

nia się zapewnia elementom ruchomym przetrwanie, z drugiej jednak strony negatywne skutki transpozycji prowadzą często do represji aktywności transpozonów w wyniku działania presji selekcyjnej. Historia ewolucji każdego elementu ruchomego jest odbiciem balansującej równowagi między tymi dwiema siłami. Jak dotychczas nie istnieją dowody na „wyginięcie” całych rodzin elementów. Różnorodność w obrębie populacji elementu jest tym wyższa im większa liczba kopii znajduje się w genomie. Przypuszcza się, że pojedyncza rodzina przodków retrotranspozonów dała początek całej różnorodności sekwencji centromerowych zbóż. Rodziną, która dała początek wszystkim centromerowo-specyficznym retrotranspozonom jest prawdopodobnie *crwydryn*. W większości przypadków retrotranspozony danej rodziny są obecne nie tylko we wszystkich badanych odmianach danego gatunku, ale też u spokrewnionych gatunków, co sugeruje, że były one obecne u wspólnego przodka przed zajściem specjacji, a następnie uległy transmisji wertykalnej. Obecność elementów *cereba* w centromerach jęczmienia, pszenicy i żyta sugeruje, że mogły się one wstawić do genomów zbóż jeszcze przed zróżnicowaniem się tych gatunków. Jednakże nie wyklucza się możliwości bardziej współczesnego, horyzontalnego transferu (np. przez retrowirusowe wektory) z preferencją do integracji w

obszar centromerowy (GRANDBASTIEN 1992, HUTTLEY i współaut. 1995, FLAVELL i współaut. 1997, HESLOP-HARRISON i współaut. 1997, PRESTING i współaut. 1998, SUONIEMI i współaut. 1998, LINARES i współaut. 1999, LANGDON i współaut. 2000, FRANCKI 2001, FUKUI i współaut. 2001, LISCH i współaut. 2001).

W przypadku non-LTR retrotranspozonów także nie wyklucza się możliwości horyzontalnego transferu, jednak uważa się, że większość tego typu elementów jest transmitowana wertykalnie, czyli z pokolenia na pokolenie co niewątpliwie prowadzi do akumulacji tych sekwencji w przeciągu danego okresu czasu (SCHMIDT 1999). Taka amplifikacja prawdopodobnie jest odpowiedzialna za zwiększanie rozmiarów genomu zbóż. W przeciągu czasu sekwencje elementów ruchomych zmieniają się tak bardzo, że ich przodek jest nierozpoznawalny, a one same dołączają do klasy sekwencji unikatowych DNA. Nie wiadomo czy retrowirusy wyewoluowały z retrotranspozonów czy odwrotnie, co mogło się odbyć przez nabycie lub utratę funkcjonalnego genu *env*, obecnego u retrowirusów, lub innych ważnych funkcjonalnie komponentów. Badania filogenetyczne wskazują, że retrowirusy i retrotranspozony wyewoluowały niezależnie z non-LTR retro-

transpozonów, co wspiera hipotezę, że wszystkie retroelementy wyewoluowały z komórkowego DNA. Wiele elementów genetycznych posiada sekwencje *rt*, są to hepadnawirusy zwierząt, caulimawirusy roślin, mitochondrialne plazmidy, introny mitochondrialne i retrotranspozony. Sekwencja aminokwasowa RT tych wszystkich elementów sugeruje wspólne ich pochodzenie. Nabycie LTRs dało początek dwóm różnym grupom LTR retrotranspozonów i trzem grupom wirusów: retrowirusom, hepadnawirusom i caulimawirusom. Tutaj również za najpierwotniejszego przodka uznaje się non-LTR retrotranspozony. Co więcej, filogenetyczne badania wykazały, że *Ty1-copia* jest najbardziej zróżnicowaną grupą wszystkich retroelementów zawierających LTRs i dlatego prawdopodobnie poprzedziły elementy *gypsy* i retrowirusy. Hipotezę tę wspiera układ genów i brak domeny *env* u *Ty1-copia*. Najprawdopodobniej po rozdzieleniu linii *copia* i *gypsy* te drugie nabyły gen *env*, który umożliwił ewolucję prawdziwych wirusów (FLAVELL 1986, XIONG i EIKBUSH 1990, SCHMIDT 1999, GRANDBASTIEN 1992, HIROCHIKA i HIROCHIKA 1993, FLAVELL i współaut. 1997, HESLOP-HARRISON i współaut. 1997, SMYTH 1991, MUNIZ i współaut. 2001).

#### SKUTKI TRANSPOZYCJI I RETROTRANSPOZYCJI

W zależności od miejsca wstawienia elementów ruchomych w genomie mogą one wywoływać różne skutki, a mianowicie:

– wstawienie elementu w obszar kodujący genu zwykle znosi funkcjonowanie białka kodowanego przez ten gen;

– wstawienie elementu w obszar kontrolny 5' genu najczęściej zakłóca lub uniemożliwia transkrypcję genu;

– jeżeli sekwencje transpozonu blokują sekwencje hamujące transkrypcję wówczas następuje wzrost aktywności genu;

– zdarza się, że w poprzednim miejscu wstawienia transpozony „złapały” sekwencje kontrolne genu bardzo aktywnego i wstawią je w nowy gen, a w takiej sytuacji gen ten będzie niezwykle często transkrybowany (duża aktywność);

– często wycięcie elementu ruchomego pozostawia „nie zagojone” końce DNA i powoduje pękanie chromosomów i powstawanie różnego rodzaju aberracji chromosomowych;

– nawet jeżeli wycięcie elementu nie pozostawia wolnych końców i nie powoduje pęknięć chromosomów, to pozostawione tandemowe powtórki, tzw. „footprint”, mogą zakłócić aktywność genetyczną przez przerwanie sekwencji kontrolnych 5' lub zaindukować mutacje typu zmiana ramki odczytu w odcinku kodującym;

– jest także możliwe, że geny zawarte w odcinku insercji transpozonu zostaną przez niego „włączone” i przeniesione z nim w nowe miejsce podczas procesu transpozycji; geny te są aktywne dzięki obecności sekwencji promotorowych w transpozonie;

– geny „gospodarza” mogą być nienormalnie aktywne jeżeli zostaną przeniesione z transpozonomem w okolice sekwencji wzmacniających lub promotora genu intensywnie transkrybowanego;

– u ssaków niektóre retrowirusy indukują raka, gdyż retrowirus włączony do sekwencji gen DNA „gospodarza” jest aktywny i wyzwała

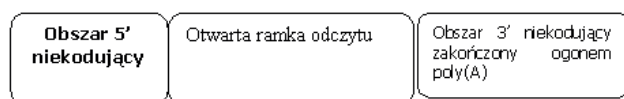
wejście komórki w stadium replikacji DNA, a następnie inicjuje podziały komórkowe; w swoim pierwotnym miejscu gen ten jest transkrybowany tylko wtedy, gdy jego aktywność jest konieczna w danej fazie cyklu komórkowego, natomiast po wstawieniu retrowirusa gen dostaje się pod wpływ niezwykle dynamicznego promotora retrowiralnego, który indukuje konstytutywną transkrypcję genu. To samo może się zdarzyć, gdy retrowirusy przeniosą dany gen związany z cyklem komórkowym do wspomnianych wyżej miejsc aktywujących transkrypcję (FIGUEIRAS i współaut. 1991, MACRAE i CLEGG 1992, HESLOP-HARRISON i współaut. 1997, KUMAR i współaut. 1997, LABRADOR i CORCES 1997).

Elementy ruchome mogą mieć korzystną funkcję w powstawaniu bioróżnorodności i nadawaniu tempa ewolucji. Mogą wpływać na regulację funkcjonowania pewnych genów, mogą brać udział w reparaacji DNA, w stabilizacji genomów u allopoliploidów, powodować inaktywację innych retrotranspozonów przez insercję w ich obszar. Korzystne działanie ele-

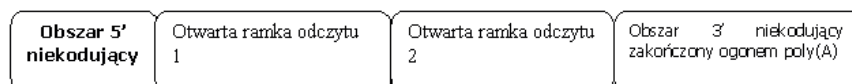
non-LTR retrotranspozony, *Het-A* i *TART*, są ważnym elementem strukturalnym telomerów i pełnią funkcję telomerazy (Ryc. 13, 14). Elementy te wydają się być spokrewnione z telomerazą gdyż mają wspólne konserwatywne domeny w swoich katalitycznych podjednostkach. Obydwe powodują powstanie nici DNA wykorzystując RNA jako matrycę. Natomiast u drożdży kodowana przez retrotranspozony RT jest odpowiedzialna za naprawę pęknięć podwójnej nici DNA.

Podejrzewa się, że pewne rodziny elementów ruchomych mogą pełnić jakąś rolę w centromerach zbóż. Jednak taka funkcja, o ile jest, nie jest znana. Uważa się, że elementy ruchome są odpowiedzialne za wzrost rozmiarów genomu. W przypadku ewolucji genomów zbóż kluczową rolę należy przypisać retrotranspozonom. Transpozony nie wydają się amplifikować w ponad kilkaset kopii na genom, ich główna funkcja polega prawdopodobnie na zwiększaniu genetycznej różnorodności. (JOHNS i współaut. 1985, FLAVELL 1986, SMYTH 1991, LABRADOR i CORCES 1997, PARDUE i

#### He T-A



#### TART



Ryc. 13. Retrotranspozony telomerowe He T-A i TART u *Drosophila* sp.

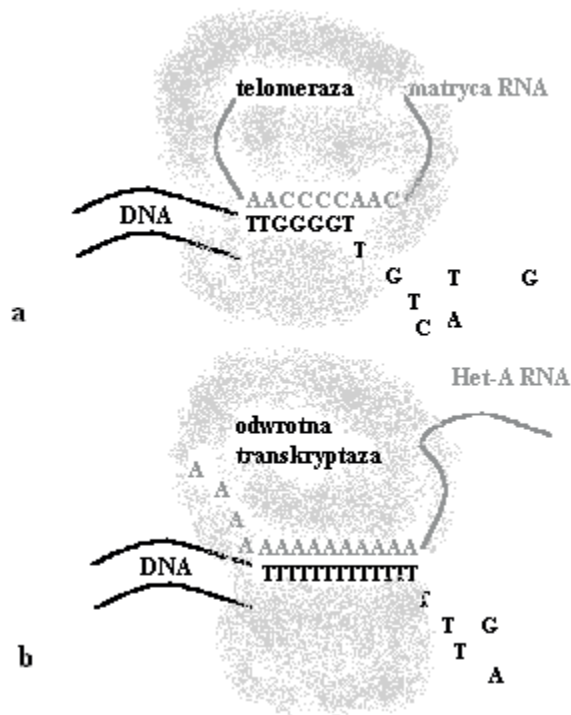
mentów ruchomych w genomie zostało udokumentowane jedynie u kilku organizmów. Jednym z nich jest *Drosophila*, u której dwa

współaut. 1997, PRESTING i współaut. 1998, SCHMIDT 1999, LANGDON i współaut. 2000, FRANCKI 2001, MUNIZ i współaut. 2001).

## ELEMENTY RUCHOME JAKO NARZĘDZIA BIOLOGII MOLEKULARNEJ

Wykazano, że system transpozonów *Ac/Ds* może być użyty do izolowania roślinnych genów podczas procedury zwanej etykietowaniem genów transpozonomi. Etykietowanie genów opiera się na fakcie, że przez wstawienie do egzonu, intronu lub promotora transpozon może zakłócić lub zmienić funkcję genu, co z kolei objawi się w fenotypie mutantu. Locus insercji może być zidentyfikowany przez rewer-

sję. Następnie izoluje się dany gen dzięki zastosowaniu transpozonu jako sondy. Za pomocą systemu transpozonów *Ac/Ds* wyizolowano i sklonowano wiele roślinnych genów zaangażowanych w morfogenezę, powstawanie barwników, odporność na choroby i inne funkcje u różnych gatunków roślin. Do etykietowania genów stosuje się także system *En/Spm*. Transpozony znalazły także zastosowanie w transfor-



Ryc. 14. Porównanie mechanizmów wydłużania końców chromosomów przez telomerazę (a) i wydłużanie końców chromosomów u *Drosophila* sp. przy udziale retrotranspozonu Het-A (b).

(a) Komponent białkowy telomerazy łączy się z końcami cząsteczki DNA, a komponent RNA enzymu jest kopiowany na DNA. (b) Het-A RNA wiąże się z odwrotną transkryptazą. Ogon na końcu 3' Het-A RNA wiąże się z końcami chromosomalnego DNA i reszta RNA jest kopiowana na DNA, co powoduje wydłużanie chromosomu przez mechanizm analogiczny do używanego przez telomerazę. Telomeraza i odwrotna transkryptaza wydłużają tylko jedną nić DNA, prawdopodobnie później druga nić jest replkowana przez polimerazę DNA (wg PARDUE i współaut. 1997).

mowaniu roślin. Wprowadzanie genów za pomocą transpozonów zmniejsza ilość zdarzeń inaktywacji wprowadzonego transgenu, co jest często obserwowane u roślin. Genetyczne i strukturalne właściwości oraz specyfika rozmieszczenia retrotranspozonów np. *Ty1-copia* czyni je przydatnymi w badaniach genetycznej bioróżnorodności i tworzeniu systemu markerów wykorzystywanych w hodowli roślin. Na przykład, wykorzystując sekwencje *BARE-1* opracowano test pozwalający określić polimorfizm genetyczny (S-SAP). Metoda ta stanowi kombinację AFLP i sekwencyjnie-specyficznego

PCR. Amplifikuje się fragmenty zawierające sekwencje LTR elementów *BARE-1* na jednym końcu i miejsce restrykcji na drugim końcu. Pozwala to na zbadanie polimorfizmu DNA opartego na lokalizacji retroelementów przyległych do miejsc restrykcji (KUMAR i współaut. 1997; MCELROY i współaut. 1997; WAUGH i współaut. 1997; TAKUMI i współaut. 1999a, b; SOLIS i współaut. 1999; KOPREK i współaut. 2000).

## GENETIC MOBILE ELEMENTS IN PLANTS AND OTHER ORGANISMS

### S u m m a r y

In this review the types of mobile genetic elements in prokaryotes and eukaryotes are presented. There is also information about their molecular characteristics, mechanisms of moving, evolution and their influence on genome structure and gene activity in organisms of plants, insects and humans. Transposable elements are abundant in genomes of lower and higher organisms. Mobile genetic elements are divided into two main groups: transposons and retrotransposons. The transposons, or "jumping genes" are fragments of DNA capable of moving, from a plasmid to another plasmid (or chromosome) in prokaryotes, and from one part of a chromosome to

another (or to another chromosome) in eukaryotes. Transposons become transposed directly from DNA to DNA eg. the *Ac* element of maize and the *P* element of *Drosophila* are similar to bacterial transposons. Retrotransposons accomplish transposition *via* an RNA intermediate that is reverse transcribed before integration into a new location within the host genome. They are ubiquitous in eukaryotes and constitute a major portion of the nuclear genome in humans, animals and plants. They are dispersed as interspersed repetitive sequences through out the genome. Retrotransposons can be divided into two sub-groups: viral retrotransposons eg. *Ty* (yeast), *copia* (fruit fly), *BsI*

(maize), *LINES* (mammals), *Cin4* (maize) and non-viral retrotransposons which comprise *SINES* and processed pseudogenes. The properties of the genetic

mobile elements have been exploited as genetic tools for plant genome analysis.

## LITERATURA

- ABBO S., DUNFORD R. P., FOOTE T. N., READER S. M., FLAVELL R. B., MOORE G., 1995. *Organization of retro – element and stem – loop repeat families in the genomes and nuclei of cereals*. Chromosome Res. 3, 5–15.
- ANANIEV E. V., PHILLIPS R. L., RINES H. W., 1998. *Complex structure of knob DNA on maize chromosome 9: retrotransposon invasion into heterochromatin*. Genetics 149, 2025–2037.
- CHANDLER V. L., HARDEMAN K., 1992. *The Mu elements of Zea mays*. Adv. Genet. 30, 77–122.
- CHATTERJEE S., STARLINGER P., 1995. *The role of subterminal sites of transposable element Ds of Zea mays in excision*. Mol. Gen. Genet. 249, 281–288.
- DINOCERA P. P., SASAKI Y., 1990. *LINES: a superfamily of retrotransposable ubiquitous DNA elements*. Trends in Genet. 6, 29–30.
- FEDOROFF N., WESSLER S., SHURE M., 1983. *Isolation of the transposable maize controlling elements Ac i Ds*. Cell 53, 243–251.
- FIGUEIRAS A. M., DE LA PEÑA A., BENITO C., 1991. *High mutability in rye (Secale cereale L.)*. Mutat. Res. 264, 171–177.
- FLAVELL R. B., 1986. *Repetitive DNA and chromosome evolution in plants*. Phil. Trans R Soc. Lond. B Bid. Sci. 312, 227–242.
- FLAVELL A. J., PEARCE S. R., HESLOP-HARRISON J. S., KUMAR A., 1997. *The evolution of Ty1-copia group retrotransposons in eukaryote genomes*. Genetica 100, 185–195.
- FLAVELL A., 2001. *Retrotransposons rule in Carry-le-Rouet*. Trends Genet. 17, 489–490.
- FRANCKI M. G., 2001. *Identification of Bilby, a diverged centromeric Ty1-copia retrotransposon family from cereal rye (Secale cereale L.)*. Genome 44, 266–274.
- FUKUI K. N., SUZUKI G., LAGUDAH E. S., RAHMAN S., APPELS R., YAMAMOTO M., MUKAI Y., 2001. *Physical arrangement of retrotransposon – related repeats in centromeric regions of wheat*. Plant Cell Physiol. 42, 189–196.
- GORBUNOVA V., LEVY A. A., 2000. *Analysis of extrachromosomal Ac/Ds transposable elements*. Genetics 155, 349–359.
- GRANDBASTIEN M., 1992. *Retroelements in higher plants*. TIG 8, 103–108.
- GRINDLEY N. D. F., REED R. R., 1985. *Transpositional recombination in prokaryotes*. Ann. Rev. Biochem. 54, 863–896.
- HEFFRON F., 1983. *Tn3 and its relatives*. [W:] *Mobile Genetic Elements*. SHAPIRO J. A. (red.). New York Academic Press, NY, 223–260.
- HEINLEIN M., 1996. *Excision patterns of Activator (Ac) and Dissociation (Ds) elements in Zea mays L.: implication for the regulation of transposition*. Genetics 144, 1851–1869.
- HESLOP-HARRISON J. S., BRANDES A., TAKETA S., SCHMIDT T., VERHININ A. V., ALKHIMOWA E. G., KAMM A., DOUDRICK R. L., SCHWARZACHER T., KATSIOTIS A., KUBIS S., KUMAR A., PEARCE S. R., FLAVELL A. J., HARRISON G. E., 1997. *The chromosomal distributions of Ty1-copia group retrotransposable elements in higher plants and their implications for genome evolution*. Genetica 100, 197–204.
- HIROCHIKA H., HIROCHIKA R., 1993. *Ty1-copia group retrotransposons as ubiquitous components of plant genomes*. Jpn. J. Genet. 68, 35–46.
- HUDAKOVA S., MICHALEK W., PRESTING G. G., TEN HOOPEN R., DOS SANTOS K., JASENCAKOVA Z., SCHUBERT I., 2001. *Sequence organization of barley centromeres*. Nucleic Acid Res. 29, 5029–5035.
- HUTTLEY G. A., MACRAE A. F., CLEGG M. T., 1995. *Molecular evolution of Ac/Ds transposable-element family in Pearl millet and other grasses*. Genetics 139, 1411–1412.
- JAASKELAINEN M., MYKKANEN A., ARNA T., VICIENT C. M., SUONIEMI A., KALENDAR R., SAVILAHTI H., SCHULMAN A. H., 1999. *Retrotransposon BARE-1: expression of encoded proteins and formation of virus-like particles in barley cells*. Plant J. 20, 413–422.
- JOHNS M. A., MOTTINGER J., FREELING M., 1985. *A low copy number, copia-like transposon in maize*. EMBO J. 4, 1093–1102.
- KATSIOTIS A., SCHMIDT T., HESLOP-HARRISON J. S., 1996. *Chromosomal and genomic organization of Ty1-copia-like retrotransposon sequences in the genus Avena*. Genome 39, 410–417.
- KIMURA Y., SHIMADA S., SOGO R., KUSABA M., SUNAGA T., BETSUYAKU S., ETO Y., NAKAYASHIKI H., MAYAMA S., 2001. *OARE-1 a Ty1-copia retrotransposon in oat activated by abiotic and biotic stresses*. Plant Cell Physiol. 42, 1345–1354.
- KISHII M., NAGAKI K., TSUJIMOTO H., 2001. *A tandem repetitive sequence located in the centromeric region of common wheat (Triticum aestivum) chromosomes*. Chromosome Res. 9, 417–428.
- KLACKNER N., 1981. *Transposable elements in prokaryotes*. Ann. Rev. Genet. 15, 341–404.
- KO J., DO G., SUH D., SEO B., SHIN D., MOON H., 2002. *Identification and chromosomal organization of two rye genome-specific RAPD products useful as introgression markers in wheat*. Genome 45, 157–164.
- KOPECKO D. J., COHEN S., 1975. *Site specific recA – independent recombination between bacterial plasmids; Involvement of palindromes at the recombination loci*. Proc. Nat. Acad. Sci. USA 72, 1373–1377.
- KOPREK T., MCELROY D., LOUWERSE J., WILLIAMS-CARRIER R., LEMAUX P. G., 2000. *An efficient method for dispersing Ds elements in the barley genome as a*



- tool for determining gene function. *Plant J.* 24, 253–263.
- KOPREK T., RANGEL S., MCELROY D., LOUWERSE J. D., WILLIAMS-CARRIER R. E., LEMAUX P. G., 2001. *Transposon-mediated single-copy gene delivery leads to increased transgene expression stability in barley*. *Plant Physiology* 125, 1354–1362.
- KUBIS S. E., HESLOP-HARRISON J. S., DESEL C., SCHMIDT T., 1998. *The genomic organization of non-LTR retrotransposons (LINEs) from three Beta species and five other angiosperms*. *Plant Mol. Biol.* 36, 821–831.
- KUMAR A., BENNETZEN J. L., 1999. *Plant retrotransposons*. *Annu. Rev. Genet.* 33, 479–532.
- KUMAR A., PEARCE S. R., MCLEAN K., HARRISON G., HESLOP-HARRISON J. S., WAUGH R., FLAVELL A. J., 1997. *The Ty1-copia group of retrotransposons in plants: genomic organization, evolution, and use as molecular markers*. *Genetica* 100, 205–217.
- LABRADOR M., CORCES V. G., 1997. *Transposable element-host interactions: regulation of insertion and excision*. *Annu. Rev. Genet.* 31, 381–404.
- LANGDON T., SEAGO C., MENDE M., LEGGETT M., THOMAS H., FORSTER J. W., THOMAS H., JONES R.N., JENKINS G., 2000. *Retrotransposon evolution in diverse plant genomes*. *Genetics* 156, 313–325.
- LINARES C., SERNA A., FOMINAYA A., 1999. *Chromosomal organization of a sequence related to LTR-like elements of Ty1-copia retrotransposons in Avena species*. *Genome* 42, 706–713.
- LISCH D. R., FREELING M., LANGHAM R. J., CHOY M. Y., 2001. *Mutator transposase is widespread in the Grasses*. *Plant Physiol.* 125, 1293–1303.
- LIU K., SOMERVILLE S., 1996. *Cloning and characterization of a highly repeated DNA sequence in Hordeum vulgare L.* *Genome* 39, 1159–1168.
- MACRAE A. F., CLEGG M. T., 1992. *Evolution of Ac and Ds elements in select grasses (Poaceae)*. *Genetica* 86, 55–66.
- MACRAE A. F., HUTTLEY G. A., CLEGG M. T., 1994. *Molecular evolutionary characterization of an Activator (Ac)-like transposable element sequence from pearl millet (Pennisetum glaucum) (Poaceae)*. *Genetica* 92, 77–89.
- MARILLONNET S., WESSLER S. R., 1998. *Extreme structural heterogeneity among the members of maize retrotransposon family*. *Genetics* 150, 1245–1256.
- MCCCLINTOCK B., 1948. *Mutable loci in maize*. *Carnegie Inst. Wash. Year Book* 47, 155–163.
- MCCCLINTOCK B., 1950. *The origin and behavior at mutable loci in maize*. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA* 36, 344–355.
- MCCCLINTOCK B., 1952. *Chromosome organization and gene expression*. *Cold Spring Symp. Quant. Biol.* 16, 13–47.
- MCCCLINTOCK B., 1961. *Some parallels between gene control systems in maize and in bacteria*. *Pm. Natur.* 95, 265–277.
- MCELROY D., LOUWERSE J. D., MCELROY S. M., LEMAUX P.G., 1997. *Development of a simple transient assay for Ac/Ds activity in cells of intact barley tissue*. *Plant J.* 11, 157–165.
- MONTE J. V., FLAVELL R. B., GUSTAFSON J. P., 1995. *WIS 2-1A: an ancient retrotransposon in the Triticeae tribe*. *Theor. Appl. Genet.* 91, 367–373.
- MUNIZ L. H., CUADRADO A., JOUVE N., GONZALEZ J.M., 2001. *The detection, cloning, and characterization of WIS 2-1A retrotransposon-like sequences in Triticum aestivum L. and xTriticosecale Wittmack and an examination of their evolution in related Triticeae*. *Genome* 44, 979–989.
- PARDUE M. L., DANILEVSKAYA O. N., TRAVERSE K. L., LOWENHAUPT K., 1997. *Evolutionary links between telomeres and transposable elements*. *Genetica* 100, 73–84.
- PEARCE S. R., HARRISON G., HESLOP-HARRISON J. S., FLAVELL A. J., KUMAR A., 1997. *Characterization and genomic organization of Ty1-copia group retrotransposons in rye (Secale cereale)*. *Genome* 40, 617–625.
- PRESTING G., MALYSHEVA L., FUCHS J., SCHUBERT I., 1998. *A TY3/GYPSY retrotransposon-like sequence localizes to the centromeric regions of cereal chromosomes*. *Plant J.* 16, 721–728.
- SAEDLER H., NEVERS P., 1985. *Transposition in plants: a molecular model*. *EMBO J.* 4, 585–590.
- SANDHU D., GILL K. S., 2002. *Structural and functional organization of '1S0.8 gene-rich region' in the Triticeae*. *Plant Mol. Biol.* 48, 791–804.
- SCOTT L., LAFOE D., WEIL C. F., 1996. *Adjacent sequences influence DNA repair accompanying transposon excision in maize*. *Genetics* 142, 237–246.
- SCHMIDT T., 1999. *LINEs, SINEs and repetitive DNA: non-LTR retrotransposons in plant genomes*. *Plant Mol. Biol.* 40, 903–910.
- SINGLETON P., SAINSBURY D., 1993. *Transposon*. [W:] *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*. John Wiley and Sons, UK.
- SMYTH D. R., 1991. *Dispersed repeats in plant genomes*. *Chromosoma* 100, 355–359.
- SOLIS R., TAKUMI S., MORI N., NAKAMURA C., 1999. *Ac-mediated trans-activation of the Ds element in rice (Oryza sativa L.) cells as revealed by GUS assay*. *Hereditas* 131, 23–31.
- SUONIEMI A., ANAMTHAWAT-JONSSON K., ARNA T., SCHULMAN A. H., 1996. *Tetrotransposon BARE-1 is a major, dispersed component of the barley (Hordeum vulgare) genome*. *Plant Mol. Biol.* 30, 1321–1329.
- SUONIEMI A., SCHMIDT D., SCHULMAN A. H., 1997. *BARE-1 insertion site preferences and evolutionary conservation of RNA and cDNA processing sites*. *Genetica* 100, 219–230.
- SUONIEMI A., TANSKANEN J., SCHULMAN A. H., 1998. *Gypsy-like retrotransposons are widespread in the plant kingdom*. *Plant J.* 13, 699–705.
- TAKUMI S., MURAI K., MORI N., NAKAMURA C., 1999a. *Trans-activation of a maize Ds transposable element in transgenic wheat plants expressing the Ac transposase gene*. *Theor. Appl. Genet.* 98, 947–953.
- TAKUMI S., MURAI K., MORI N., NAKAMURA C., 1999b. *Variation in the maize Ac transposase transcript level and the Ds excision frequency in transgenic wheat callus lines*. *Genome* 42, 1234–1241.

- TURCOTTE K., SRINIVASAN S., BUREAU T., 2001. *Survey of transposable elements from rice genomic sequences*. Plant J. 25, 169-179.
- VERHININ A. V., DRUKA A., ALKHIMOWA A. G., KLEINHOF A., HESLOP-HARRISON J. S., 2002. *LINEs and gypsy-like retrotransposons in Hordeum species*. Plant Mol. Biol. 49, 1-4.
- VICIENT C. M., KALENDAR R., SCHULMAN A. H., 2001. *Envelope-class retrovirus-like elements are widespread, transcribed and insertionally polymorphic in plants*. Genome Res. 11, 2041-2049.
- WATSON J. D., GILMAN M., WITKOWSKI J., ZOLLER M., 1992. *Movable genes in recombinant DNA*. Scientific American Books NY, 175-190.
- WAUGH R., MCLEAN K., FLAVELL A. J., PEARCE S. R., KUMAR A., THOMAS B. B. T., POWELL W., 1997. *Genetic distribution of BARE-1-like retrotransposable elements in the barley genome revealed by sequence-specific amplification polymorphisms (S-SAP)*. Mol. Gen. Genet. 253, 687-694.
- XIONG Y., EIKBUSH T. H., 1990. *Origin and evolution of retroelements based upon their reverse transcriptase sequences*. EMBO J. 9, 3353-3362.