

Mobile DNA transposition in somatic cells

La transposición de ADN en las células somáticas*

Resumen

Durante mucho tiempo se supuso que casi todas las inserciones de elementos móviles de ADN ocurrían durante el desarrollo de células germinales en vez de en el desarrollo de células somáticas, pero actualmente se está acumulando evidencia sólida de transposición en las células somáticas. Para agregar a esta evidencia, un artículo reciente publicado en la revista *Mobile DNA*¹, informa de la transposición somática en embriones de *Drosophila* de R2, un retrotransposón específico de sitio cuyo lugar de inserción es el ADN ribosomal 28S.

Comentario

El ADN móvil, o elementos transponibles, comprende la mayor parte del genoma en todos los organismos, y constituye alrededor del 50% de los genomas de la mayoría de las plantas y los mamíferos. Algunos elementos móviles conocidos como **transposones** de ADN, se mueven por un simple mecanismo del tipo «cortar y pegar», removiendo ADN de un sitio e insertándolo en un nuevo objetivo. Otros, llamados **retrotransposones**, se mueven a través de un intermediario de ARN que se copia en ADN y luego se integra en el genoma.

Los **retrotransposones** que contienen las principales actividades enzimáticas necesarias para su movilidad se llaman **autónomos**. Éstos codifican la transcriptasa inversa y endonucleasa, enzimas esenciales para la transposición: mientras que otras actividades que pueden ser necesarias son provistas por la célula huésped. Los retrotransposones **no autónomos** carecen de los genes de la transcriptasa inversa y endonucleasa y sólo se pueden mover si estas actividades son proporcionadas por un transposón autónomo en la misma célula (Figura 1).

Los únicos elementos transponibles que son autónomos y activos en los seres humanos y otros primates son los elementos LINE-1 (L1), que son un tipo de retrotransposón que carece de las repeticiones terminales largas (LTR) típica de los retrovirus endógenos (Recuadro 2). Los elementos L1 también pueden conducir a la inserción de retrotransposones no autónomos, que en los mamíferos son *Alu*, los elementos de SVA y pseudogenes procesados², el último de los cuales son ARN empalmados que se copian en ADN y luego se insertan en el genoma gracias a la actividad de los L1 (Figura 1).

por Haig H Kazazian

Traducción y adaptación:
Pablo Adrián Otero

El ADN móvil ha sido descrito como la «materia oscura» del genoma: una parte significativa de su masa, difícil de entender y a menudo ignorado. Los elementos de transposición también pueden ser vistos como la «energía oscura», una fuerza dinámica que no sólo acelera la expansión, sino también ayuda a establecer la trama de los genomas, para bien o para mal. Los elementos transponibles surgieron como parásitos intracelulares que se domesticaron. Una nueva inserción lo más probable es que sea benigna, muy ocasionalmente peligrosa y raramente beneficiosa.

Sin embargo, en el transcurso de la evolución eucariota, algunas inserciones beneficiosas se han conservado, otras perjudiciales se han perdido, y un grupo de elementos transponibles ha contribuido en la arquitectura de los cromosomas a tal punto que no podemos entender nuestro propio genoma, sin entender su biología (Goodier y Kazazian, 2008, p. 31).

(*) Este artículo es una traducción y adaptación del artículo: Mobile DNA transposition in somatic cells. Autor H. H. Kazazian, publicado en *BMC Biology*. Vol. 9, pp. 62-65. Disponible en: <http://www.biomedcentral.com/1741-7007/9/62>

Retrotransposones

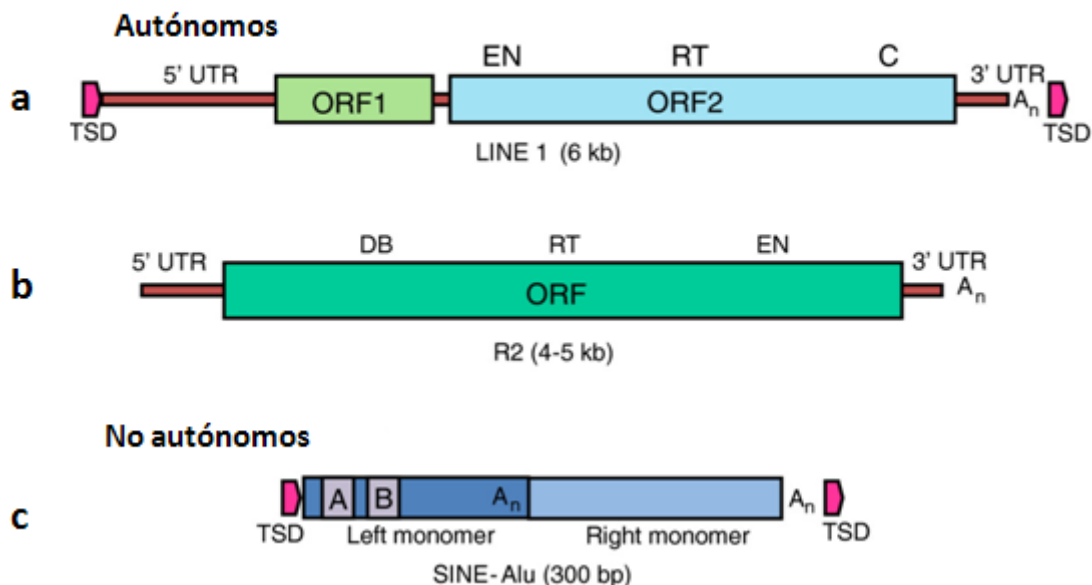


Figura 1: Los retrotransposones se incorporan a través de un intermediario de ARN que es sintetizado por una transcriptasa inversa (RT) en ADN que luego se integra al genoma de la célula huésped. Los retrotransposones autónomos contienen varias (aunque no todas) las actividades necesarias para su movilidad. Entre ellos están los LINEs (a). De los LINEs, sólo el grupo L1 se sabe que es activamente móvil en los mamíferos euterios. R2 es un elemento transponible autónomo (b) que está activo en los insectos y es el elemento comentado de este artículo. Los elementos no autónomos, tales como Alu (c), dependen de L1 para su movilidad. Significado de las siglas: **EN**: región que codifica para el dominio con función endonucleasa; **RT**: región que codifica para el dominio con función transcriptasa inversa; **DB**: región que codifica para el dominio con función de unión al ADN. **UTR**: regiones que no se traducen (untranslated regions); **A/B** promotores de ARN Pol III.

LINES y SINES

LINES o *Long Interspersed Nuclear Elements* (Elementos nucleares dispersos largos), se denominan a un tipo de secuencia de ADN repetido disperso que representa hasta el 15% del genoma humano. El tipo más importante de LINEs es la familia L1 que poseen 6000 pares de bases y están presentes en un número de 800.000 copias dispersas por todo el genoma.

Los LINEs codifican para dos proteínas: una proteína de unión al ARN codificada en el primer marco de lectura abierto (ORF en inglés) y una enzima con actividad retrotranscriptasa y endonucleasa, codificada por el ORF2. Por lo tanto, se los considera retrotransposones autónomos, ya que codifican las proteínas que necesitan para propagarse (Figura 1).

Dado que posee un promotor para la ARN polimerasa II en la región 5' UTR (*untranslated region* – región no traducida), la ARN polimerasa II presente en la célula transcribe el LINE. El ARNm resultante se traduce a partir de ambos marcos de lectura produciendo las diferentes proteínas, entre ellas la retrotranscriptasa. Esta retrotranscriptasa actúa sobre el mismo ARNm produciendo una copia de ADN, es decir una copia del LINE, que luego puede insertarse en el genoma. Además estas proteínas pueden retrotranscribir e insertar otros elementos móviles no autónomos (pseudogenes procesados o elementos SINE) y así propagarlos.

La mayoría de las secuencias LINEs no están completas, debido a la retrotranscripción incompleta, dando origen a LINEs truncados en el extremo 5' lo que produce que no son móviles. Solo pocas copias están completas y además mantienen la capacidad de moverse.

Se sabe que algunas secuencias LINE pueden estar involucradas en la regulación de la expresión génica, lo cual es muy relevante ya que la mayoría de los genes humanos poseen alguna secuencia LINE en sus intrones.

A diferencia de un LINE un SINE (*short interspersed nuclear element* o elemento nuclear disperso corto), son secuencias cortas de pocos cientos de bases dispersas por todo el genoma y que representan hasta el 15% del genoma humano. El tipo de SINE más abundante se conoce como la familia de elementos Alu (nombre que deriva de la enzima de restricción utilizada para localizarlos). Los Alu poseen secuencias de 250-280 nucleótidos presentes hasta en 1.500.000 de copias dispersas por todo el genoma.

Una cuestión importante en la biología de los retrotransposones es: ¿cuándo se produce la mayoría de la retrotransposición? Debido a que estos elementos de ADN se encuentran dispersos en los genomas y son heredados de una generación a otra, la respuesta por muchos años ha sido: en las células germinales, ya que la mayoría de las inserciones somáticas no son heredadas a la próxima generación y no aparecerían en el genoma de generación en generación. Sin embargo, un número creciente de evidencias indica que la retrotransposición somáticas en mamíferos, no sólo se produce, sino que es probable que ocurra con una frecuencia considerable.

La retrotransposición de R2 en moscas de la fruta

La evidencia de la transposición somática de ADN móviles en otras formas de vida de los mamíferos está mezclada. Tc1, el principal transposón de *Caenorhabditis elegans*, es capaz de transponer en células somáticas, mientras que en las especies de *Drosophila*, la movilidad de los elementos P y el factor I (un transposón del tipo L1 sin LTR), parecen limitadas a las células germinales. Ahora, Eickbush y Eickbush (2011), en un estudio publicado en Mobile DNA, encontraron que la transposición de R2, otro retrotransposón autónomo de *Drosophila*, puede ocurrir en las células somáticas durante el desarrollo embrionario temprano. R2 es uno de los retrotransposones no-LTR con muchas características en común con los elementos L1 de mamíferos, en particular su capacidad para retrotranscribir e integrarse en un solo paso directamente en el ADN cromosómico. Sin embargo, R2 difiere de la L1 en el que se inserta en un solo sitio en los genes 28S rRNA, mientras que L1 puede insertarse en el genoma en un gran número esencialmente al azar de secuencias consenso cortas. Además, las endonucleasas codificadas por los dos elementos móviles se diferencian en su posición dentro del elemento y su tipo enzimático (con enzimas de restricción de tipo IIS para R2 y apurínicas/apirimidínicas para la endonucleasa de L1).

Utilizando PCR de un solo paso, Eickbush y Eickbush (2011) encontraron evidencia de 15 inserciones somáticas embrionarias tempranas en 7 de 29 moscas estudiadas. Este número de inserciones somáticas es claramente un mínimo, y vale preguntarse cuántas más inserciones se hubieran detectado en una PRC anidada de dos etapas. Las inserciones se detectaron en múltiples tejidos, tanto de los adultos como en estadios larvarios, y tenía todas las características de auténticas inserciones de R2. Ocurrieron en el sitio de inserción del gen 28S rRNA de R2 o muy cerca del mismo. En muchos casos había unos cuantos nucleótidos no codificados en el extremo 5' y todos fueron 5' truncados. Debido a que las mismas inserciones somáticas se encuentran en diferentes tejidos, el momento se podría estimar en el desarrollo temprano, antes de la diferenciación de los tejidos, incluyendo la línea germinal.

En un estudio previo de 213 inserciones R2 en la descendencia de una sola mosca hembra se encontraron 32 nuevas inserciones. Veintisiete de ellas fueron claramente eventos producidos en la línea germinal, ocurridos cada uno en una mosca. Los cinco restantes parecían ser resultado de un evento somático ya que las idénticas inserciones se produjeron en más de una mosca, lo que significa que uno de los padres era un mosaico de línea germinal y que la misma inserción estaba presente en muchas pero no todas las células germinales. También se sabía previamente que la retrotransposición de R2 se

Bárbara McClintock y «el ADN se mueve»

¿Cómo habrá sido sugerir que el ADN se podía mover de un sitio a otro en la misma época que el furor era mapear los genes? Bárbara McClintock fue una excelente investigadora que se topó con esta cuestión cuando descubrió los elementos genéticos móviles a partir de su investigación sobre citogenética del maíz y la relación de este proceso con la variegación en el color de los granos.



Cuando en 1951 leyó su trabajo en un simposio ante colegas, estos trataron su teoría con indiferencia. Aunque se reconocía su excelencia en el diseño de experimentos, lo complejo de estos, sumado a las deficiencias en la comunicación llevaron a muchos a decir que no habían entendido ni una sola palabra; aunque no dudaban de la veracidad de lo expuesto.

A partir de ese año ocurrieron muchos avances en el entendimiento de cómo se transmite y expresa la información genética; se descifró: la estructura del ADN (Watson y Crick, 1953), el código genético (Marshall Nirenberg, 1961) y los primeros mecanismos regulatorios genéticos (Jacob y Monod, 1961); además de desarrollarse las técnicas de ADN recombinante y clonado de genes.

Como consecuencia de esto, recién veinte años después se pudo confirmar la existencia de elementos móviles en procariontes, maíz y otros tipos de organismos.

Casi treinta años después, en 1983, Bárbara McClintock recibió el Premio Nobel de Medicina y Fisiología de forma no compartida (hecho sin precedentes). Sucede que muchas veces un descubrimiento se anticipa a su época y no es aceptado inmediatamente por el resto de la comunidad científica. Tal es el caso de los «elementos genéticos móviles», porciones de ADN que cambian de lugar dentro del genoma.

Bárbara McClintock falleció en 1992 a la edad de 90 años.

Fuente de la foto: http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/medicine/laureates/1983/mcclintock-autobio.html

produce con mucha menos frecuencia en machos que en hembras, y ahora Eickbush y Eickbush (obra citada), sugieren que tal vez todas las retrotransposición de R2 en los machos puede ser debido a mosaicismo germinal. Por lo tanto, parece que la incidencia de la retrotransposición somática de R2 no es muy diferente de la de la inserción en la línea germinal.

Inserciones somáticas de L1 en los seres humanos y los ratones

Durante los últimos seis años se ha acumulado evidencia sustancial de inserción somática de los elementos L1 de mamíferos. Muotri y colaboradores (2005) encontraron retrotransposición de L1 en precursores neuronales de cerebros de ratón, específicamente en el hipocampo, utilizando transgenes L1 humanos modificados por ingeniería genética, Coufal (2009) utilizó PCR cuantitativa para ampliar los datos que incluyen un aumento de las inserciones L1 endógeno en las regiones del cerebro humano y de ratones en comparación con otros tejidos. Muotri (2010) demostró que los ratones con un *knockout* en el gen MECP2, que codifica la proteína metil-CpG 2, tiene más inserciones de transgenes L1 en el hipocampo que los ratones normales. También encontraron que las pacientes mujeres con el síndrome de Rett (que tienen una deficiencia natural de MeCP2) tienen aumentos pequeños pero significativos de inserciones de L1 en sus hipocampos. Mientras tanto, van den Hurk (2007) ha demostrado un ejemplo de la inserción embrionaria temprana de L1 en un ser humano quien luego mostró mosaiquismo para una inserción L1 tanto en la línea germinal como somática. García-Pérez (2007) encontró retrotransposición de L1 transfectadas en células madre embrionarias humanas, y Kano y otros (2009) mostró que transgenes humanos y de ratón L1 producen más eventos retrotransposición en la embriogénesis temprana en ratones y ratas que en la línea germinal. Muy recientemente, Baillie y colaboradores han utilizado el enriquecimiento de los retrotransposones humanos seguido de secuenciación de próxima generación para descubrir un asombroso número (miles) de los eventos de retrotransposiciones somáticas en el hipocampo. Por lo tanto, ya no hay ninguna duda de que la inserción de L1 somática ocurre en humanos y ratones.

Estos hallazgos producen muchas preguntas. La transposición de ADN móvil puede ser destructiva para la función de los genes y los organismos huéspedes poseen mecanismos para suprimirla, sobre todo en la línea germinal. Entonces, ¿por qué se producen retrotransposiciones somáticas? ¿por qué los controles de los organismos hospedadores no bloquean la transposición en la embriogénesis temprana? Desde el punto de vista de la evolución del animal huésped, si la retrotransposición es probable que ocurra de todas formas, es menos perjudicial si se produce en las células somáticas, ya que no son heredables en la próxima generación, en lugar de en la línea germinal, donde pueden causar mutaciones que pueden ser transmitidas a la descendencia. Además, las inserciones somáticas son menos propensas a ser inmediatamente perjudiciales para el huésped que las inserciones de línea germinal, ya que sólo afectan a un número limitado de células. Por lo tanto, si los recursos del huésped para controlar la retrotransposición son limitados, sería mejor utilizarlos en la línea germinal.

En el futuro, tenemos que aprender por qué diversos huéspedes permiten inserciones somáticas de un elemento, pero no para otro, y cuál es la frecuencia de retrotransposiciones somáticas de diversas secuencias móviles de ADN móviles en una variedad de organismos y tipos de tejidos. También debemos aprender más acerca de las etapas del desarrollo embrionario en el que la mayoría de las inserciones somáticas se producen, y el papel del ADN móvil, si lo tuviera, en la oncogénesis. Tal vez también vamos a descubrir si los controles sobre la movilidad de transposones en las células somáticas en diversos hospedantes son similares a los utilizados para controlar la movilidad en la línea germinal. En cualquier caso, el estudio de Eickbush y Eickbush (antes citado) proporciona nueva evidencia de la importancia de las inserciones somáticas de L1, como ejemplo de retrotransposición no-LTR.

Hay 65 enfermedades humanas causadas por inserciones de elementos transponibles L1, Alus y SVAs. Sin embargo, la simple mutación por inserción no es más que una de un número sorprendente de maneras en que los retrotransposones remodelan el genoma y alteran la expresión génica (Goodier y Kazazian, 2008, p. 25).

Bibliografía

Baillie, J. K. y otros. Somatic retrotransposition alters the genetic landscape of the human brain. *Nature*. En prensa.

Coufal, N. G. y otros. 2009. L1 retrotransposition in human neural progenitor cells. *Nature*. Nº 460, pp. 1127-1131.

Eickbush, M. T. y Eickbush, T. H. 2011. Retrotransposition of R2 elements in somatic nuclei during the early development of *Drosophila*. *Mobile DNA*. Vol. 2, pp. 11-15.

García-Pérez, J. L. y otros. 2007. LINE-1 retrotransposition in human embryonic stem cells. *Hum. Mol. Genet.* Nº 16, pp. 1569-1577.

Goodier, J. L. y Kazazian, H. H. Jr. 2008. Retrotransposons Revisited: The Restraint and Rehabilitation of Parasites. *Cell*. Vol. 135, pp. 23-35.

Kano, H. y otros. 2009. L1 retrotransposition occurs mainly in early embryogenesis and creates significant somatic mosaicism. *Genes & Dev.* Nº 23, pp. 1303-1312.

Kazazian, H.H. Jr. 2011. Mobile DNA transposition in somatic cells. *BMC Biology*. Vol. 9, pp. 62-65.

Muotri, A.R. y otros. 2005. Somatic mosaicism in neuronal precursor cells mediated by L1 retrotransposition. *Nature*. Nº 435, pp. 903-910.

Muotri, A. R. y otros. 2010. L1 retrotransposition in neurons is modulated by MeCP2. *Nature*. Nº 468, pp. 443-446.

Otero, P. 2008. ¿Quién es? Bárbara McClintock. *Boletín Biológica*. Número 8, pp. 12.

van den Hurk, J. A. y otros. 2007. L1 retrotransposition can occur early in human embryonic development. *Hum. Mol. Genet.* Nº 16, pp. 1587-1592.