

THE EFFECT OF COMMON DRUGS ON LINE-1 MOBILIZATION

Polina Avdunina, Mikhail Bolshelapov, Victoria Borodina, Aleksandra Kolodyzhnaya, Artemiy Kovynev, Anna Lazareva, Berta Muñoz, Andrea Parra, Júlia Urgel, Yoana Arboleda Estudillo, Anna Potapova, Natalia Sukharicheva, Thomas Widmann and José Luis García Pérez



SUMMARY

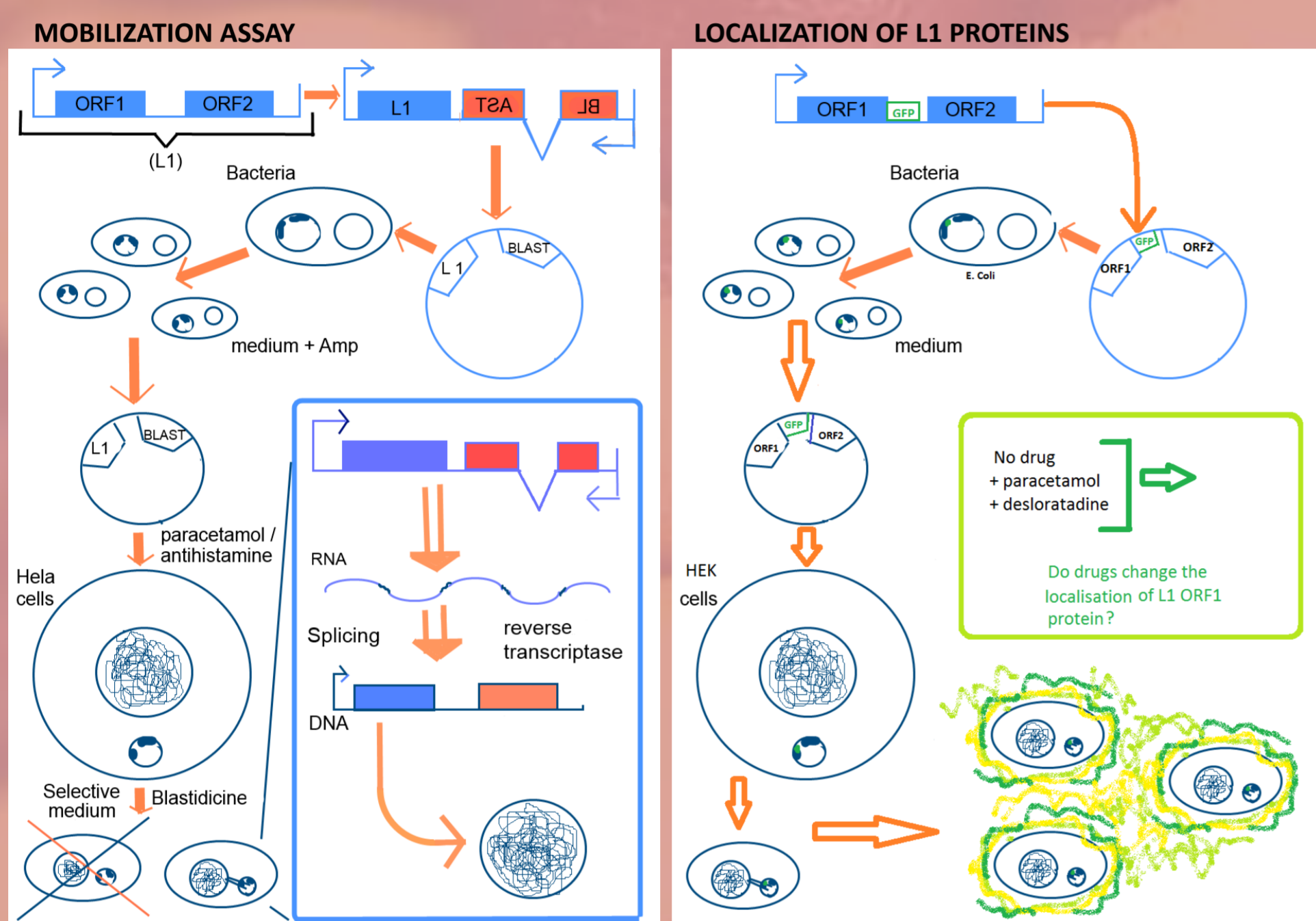
Transposable elements (TEs), also known as "jumping genes," are DNA sequences that are capable of moving from one location in the genome to another. These elements were first identified more than 50 years ago by geneticist Barbara McClintock in maize. Decades thereafter, the prevailing opinion among scientists was that transposons were useless or "junk" DNA. However, over the last few years, there has been increasing evidence that this so-called "junk" DNA might not be junk after all as they are found in almost all organisms and typically in large numbers. For instance, TEs make up approximately 50% of the human genome and up to 90% of the maize genome (SanMiguel, 1996). In addition, it is also widely believed that TEs might carry out some biological function, such as providing regulatory sequences that might influence the regulation of nearby genes.

Today, scientists know that there are many different types of TEs, as well as a number of ways to categorize them. One of the more common divisions is between those TEs that require reverse transcription in order to transpose and those that do not. Therefore, the former elements are known as retrotransposons or class 1 TEs, whereas the latter are known as DNA transposons or class 2 TEs. There are two major types of class 1 TEs: LTR retrotransposons, which are characterized by the presence of Long Terminal Repeats (LTRs) on both ends; and non-LTR TEs, which lack the repeats. Both the LINE-1, or L1, and Alu genes represent families of non-LTR TEs. (Miura *et al.*, 2001).

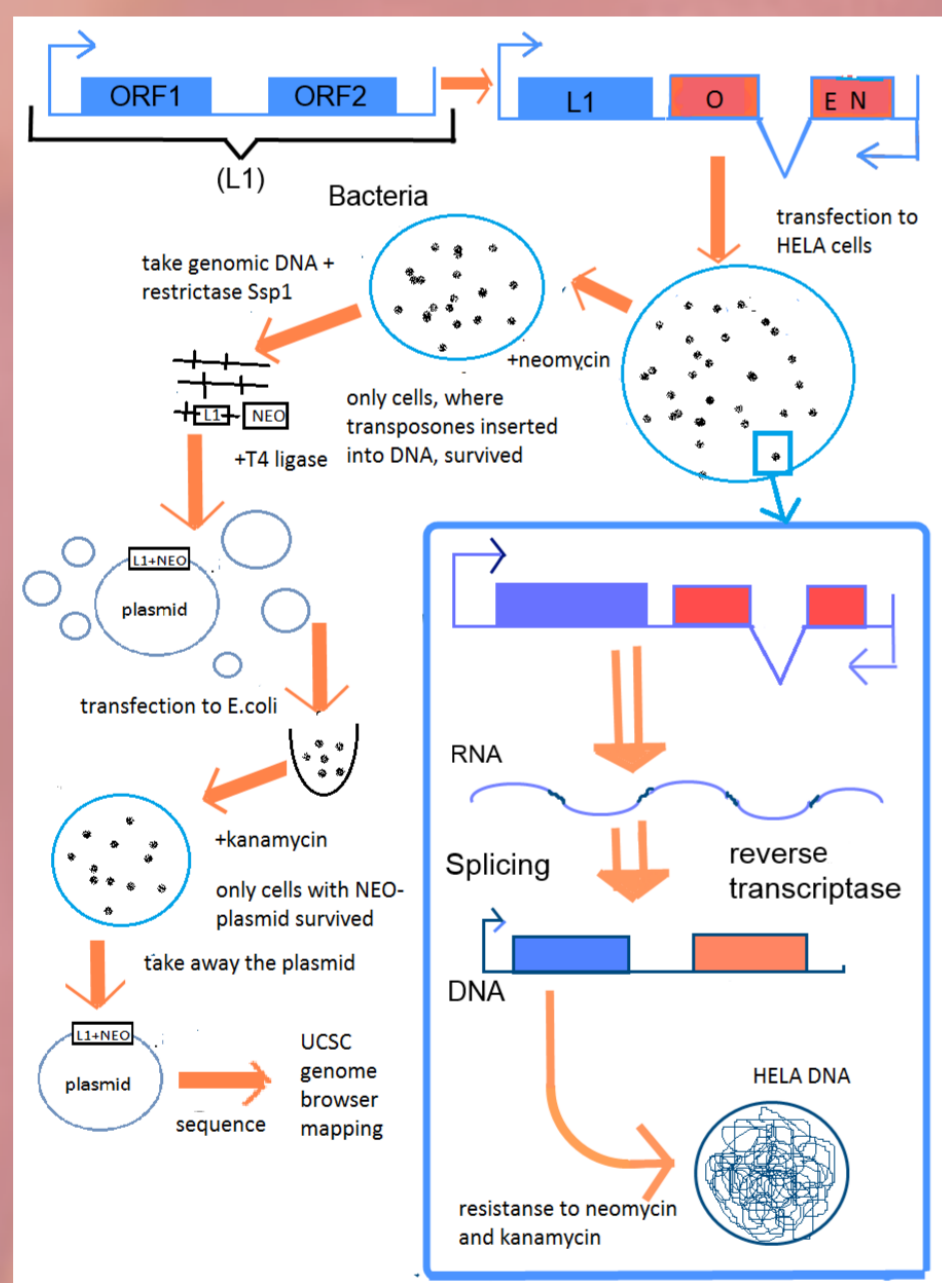
The main objective of the "transposon lab" is to study the mobilization of LINE-1 transposable element in human cells. In addition, we also tested whether the frequency of LINE-1 mobilization could be influenced by drugs such as Paracetamol and Desloratadine (an antihistaminic). Furthermore, we sequenced new LINE-1 insertions in cultured HeLa cells to infer the genomic impact of retrotransposition.



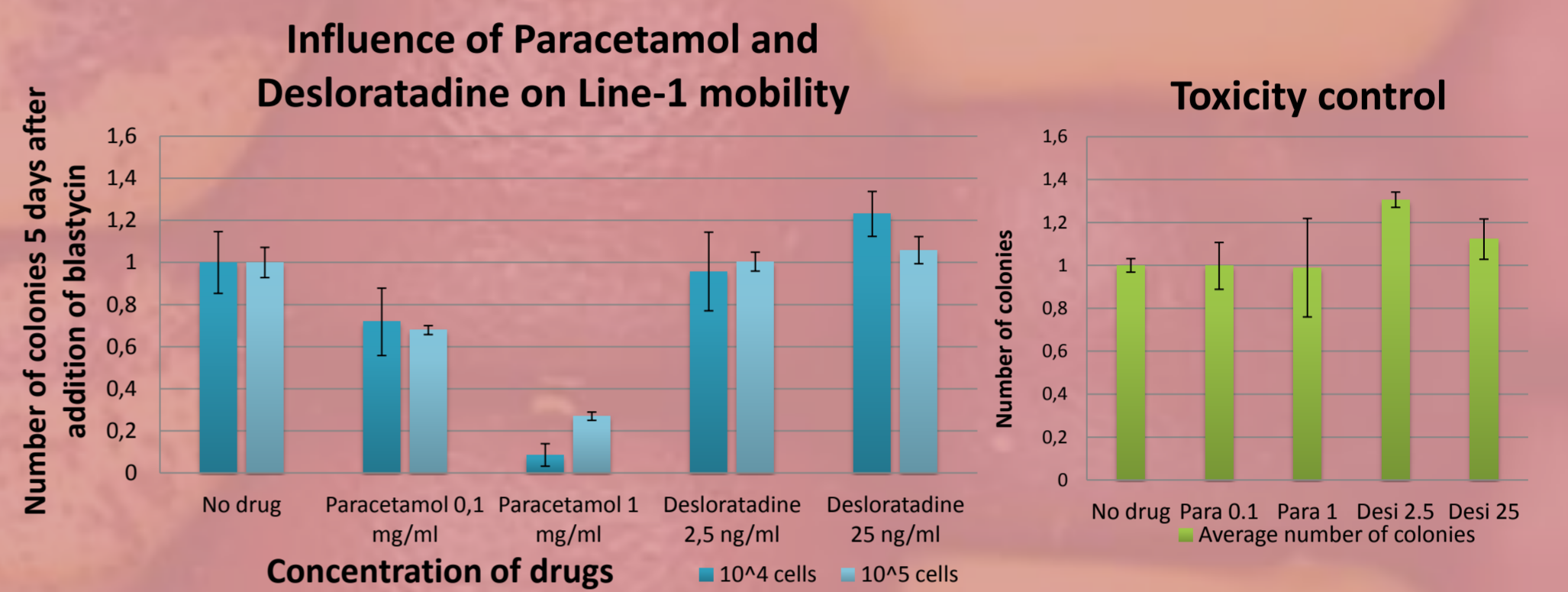
METHODS



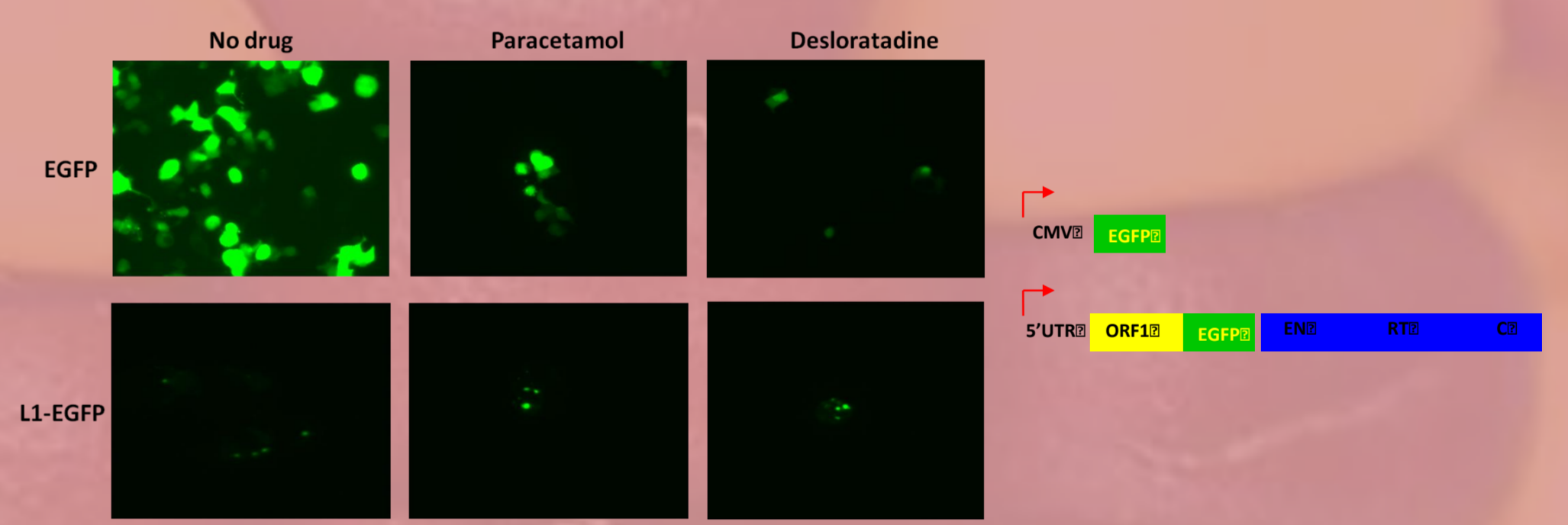
MAPPING OF INSERTIONS



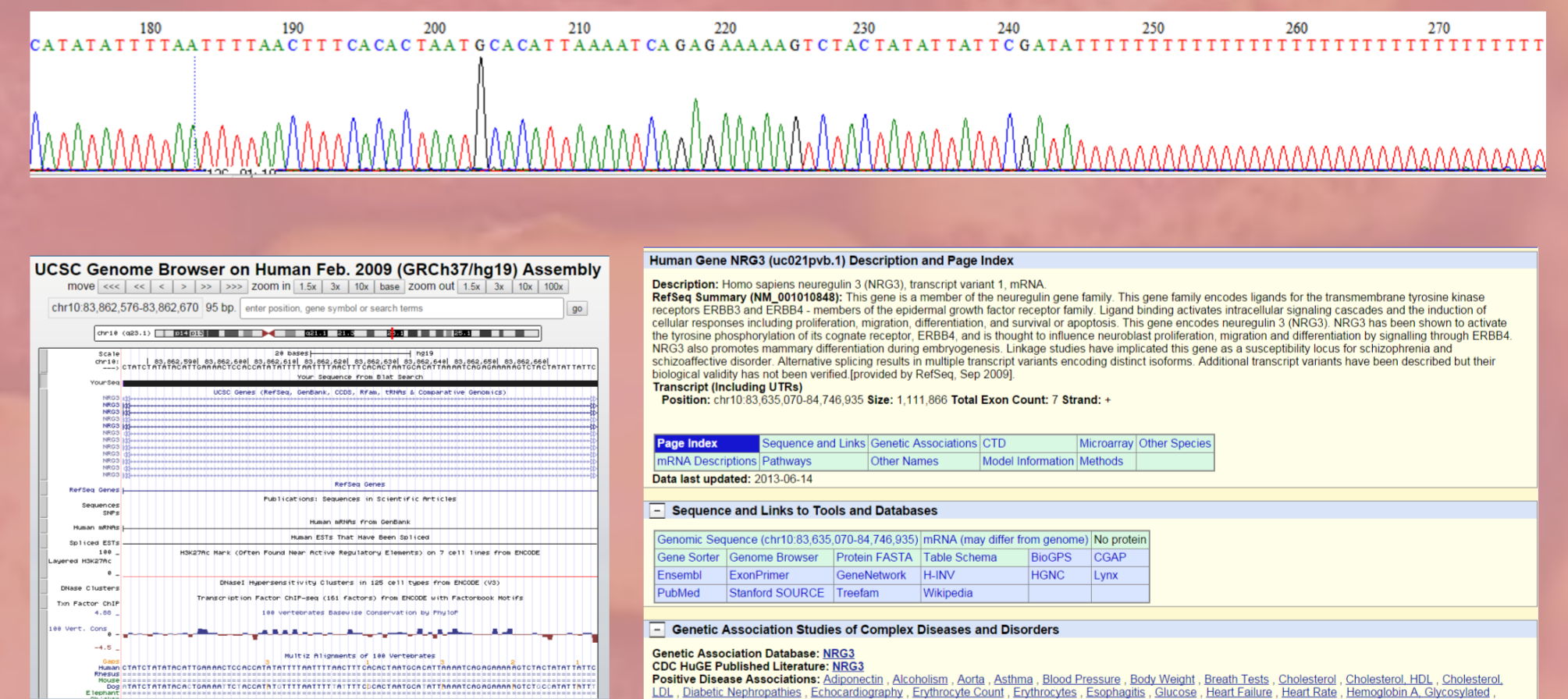
QUANTIFICATION OF RETROTRANSPOSITION ASSAYS



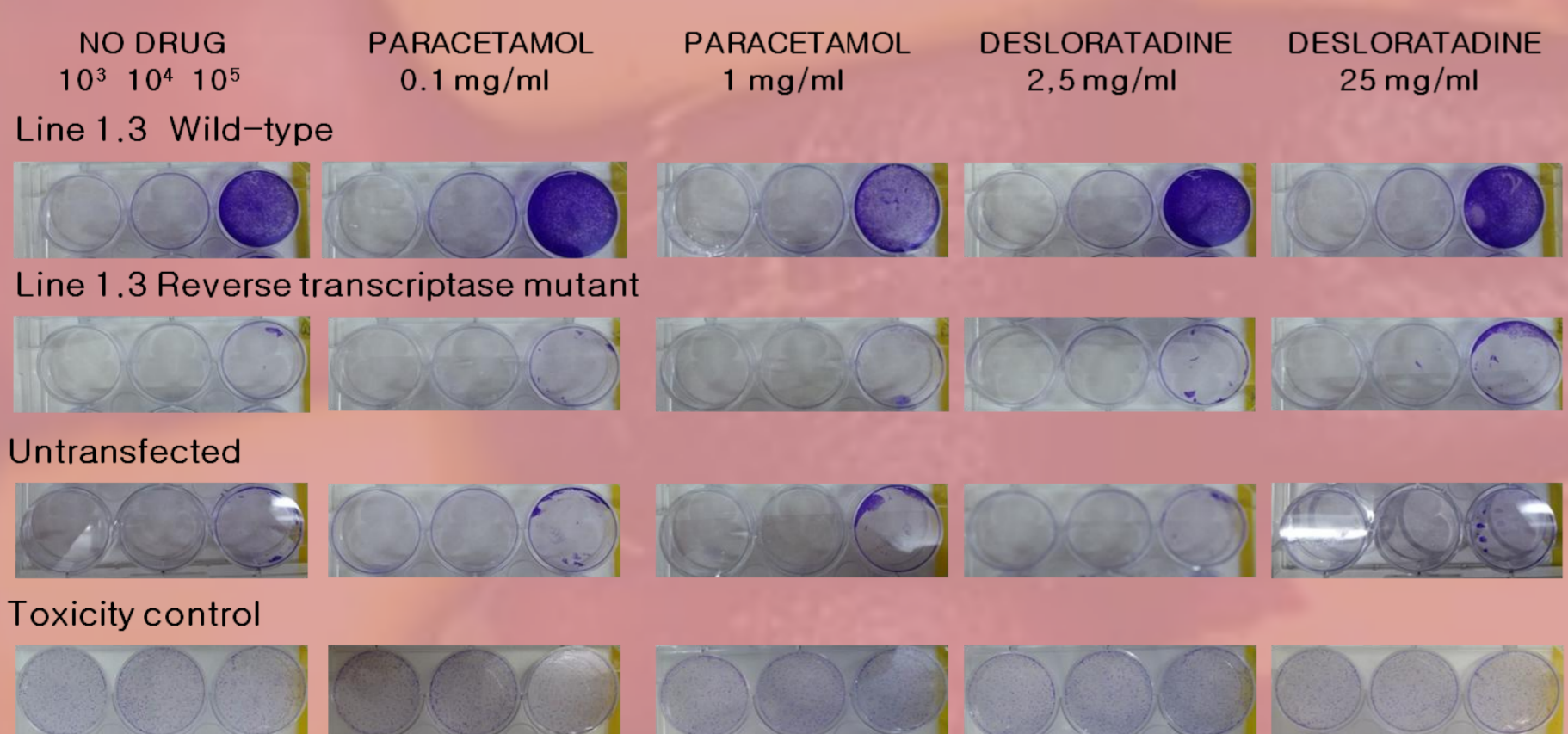
LOCALIZATION OF L1 PROTEINS



MAPPING OF INSERTIONS



REPRESENTATIVE RESULTS FROM RETROTRANSPOSITION ASSAYS



CONCLUSIONS

1. The concentrations of paracetamol and desloratadine used are not toxic to cultured HeLa cells.
2. Paracetamol reduces LINE-1 retrotransposition in cultured cells: 5-fold.
3. Paracetamol nor desloratadine do not interfere with the localization of L1-encoded ORF1p.

FUTURE DIRECTIONS

1. Test other concentrations of paracetamol and desloratadine in LINE-1 mobility assays.
2. Test other commonly used drugs in LINE-1 mobility assays.
3. To determine the mechanism of paracetamol inhibition of LINE-1 retrotransposition.

ACKNOWLEDGEMENTS

We thank the excellent help of Institute of Cellular Biophysics Microscope core for their help with microscopy analyses. We also thank the Dynasty Foundation for their continued support, both Directors of the School (Fyodor and Dmitry) and Dr. Masha Tutukina for her help in organizing the working wet lab.

ЭФФЕКТ РАСПРОСТРАНЕННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ НА МОБИЛЬНОСТЬ ЭЛЕМЕНТА LINE-1



Polina Avdunina, Mikhail Bolshelapov, Victoria Borodina, Aleksandra Kolodyazhnaya, Artemiy Kovynev, Anna Lazareva, Berta Muñoz, Andrea Parra, Júlia Urgel, Yoana Arboleda Estudillo, Anna Potapova, Natalia Sukharicheva, Thomas Widmann and José Luis García Pérez

ВВЕДЕНИЕ

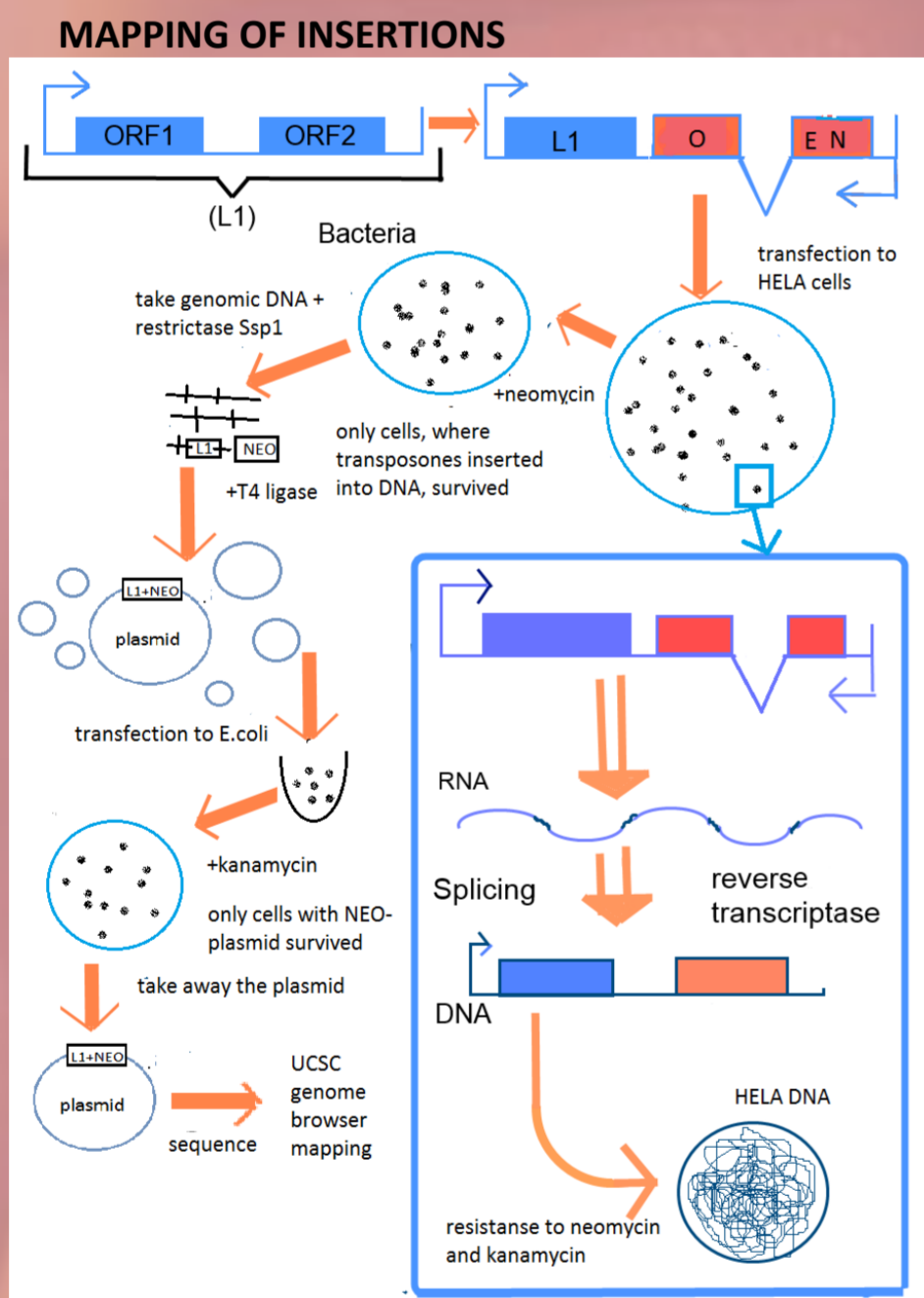
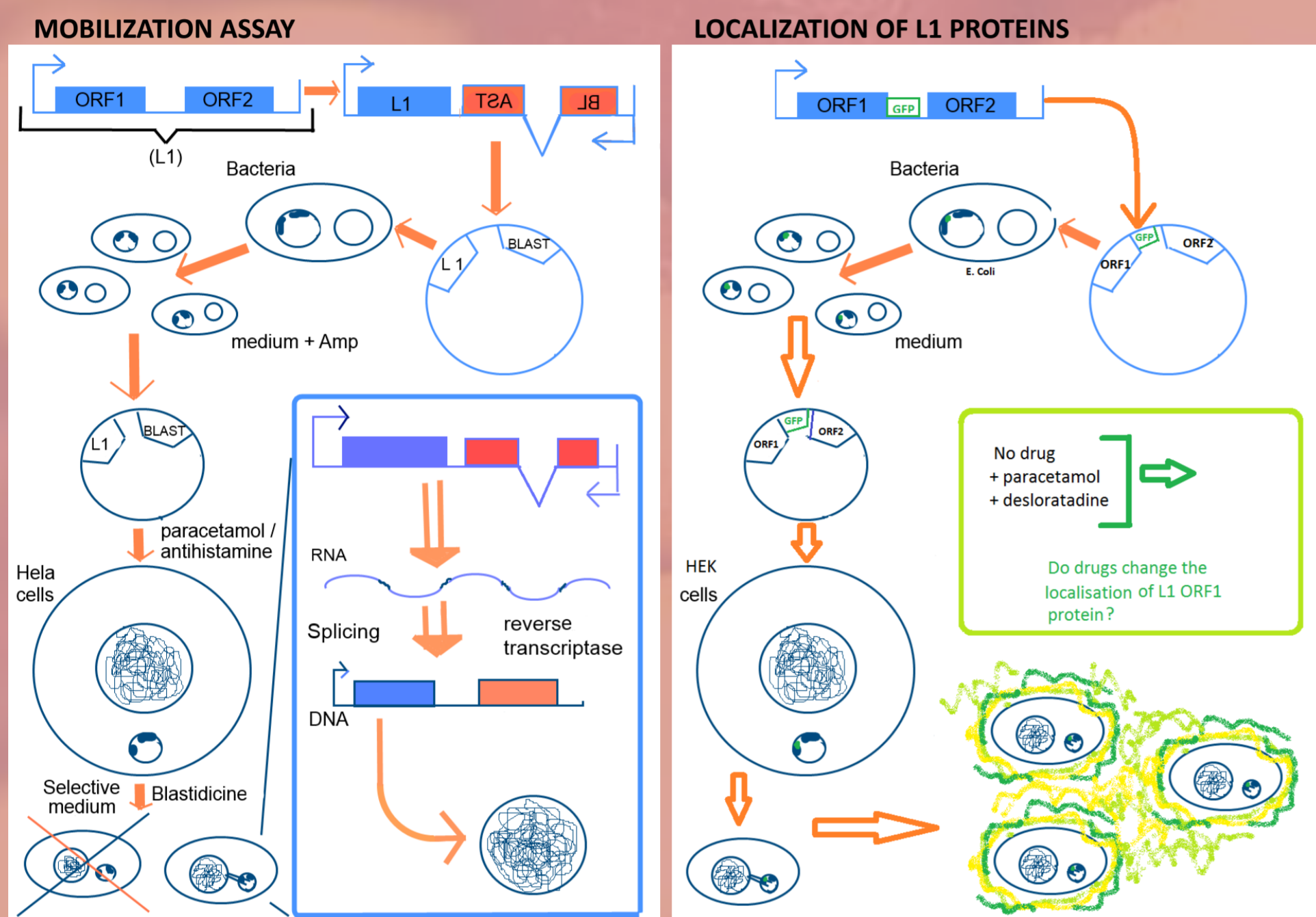
Мобильные элементы (транспозоны), также известные, как «скачущие гены», представляют собой последовательности ДНК, способные перемещаться из одного участка генома в другой. Такие элементы были впервые обнаружены более 50 лет назад генетиком Барбарой МакКлинток в кукурузе. Даже спустя десятилетия ученые считали транспозоны бесполезной или «мусорной» ДНК. Однако, в последние годы стало появляться все больше доказательств, что мобильные элементы могут представлять значительную важность, так как они были обнаружены в геномах большого числа организмов. Например, практически 50% человеческого генома и около 90% генома кукурузы образованы транспозонами (SanMiguel 1996). Помимо этого, широко распространено мнение, что транспозоны могут выполнять некоторую биологическую роль, например, включать в себя регуляторные последовательности, влияющие на работу соседних генов.

В настоящее время ученые знают множество видов мобильных элементов ДНК и могут их классифицировать. Так например, среди транспозонов выделяют те, которые способны встраиваться в геном путем обратной транскрипции. Такие мобильные элементы объединены в Класс 1, в то время, как все другие входят в Класс 2. Первый класс транспозонов можно подразделить на LTR транспозоны (от Long Terminal Repeats), имеющие длинные терминальные повторы на обоих концах и non-LTR транспозоны, у которых таких повторов нет. Гены LINE-1 (или L1), а также гены Alu включены в семейство non-LTR транспозонов (Miura et al, 2001).

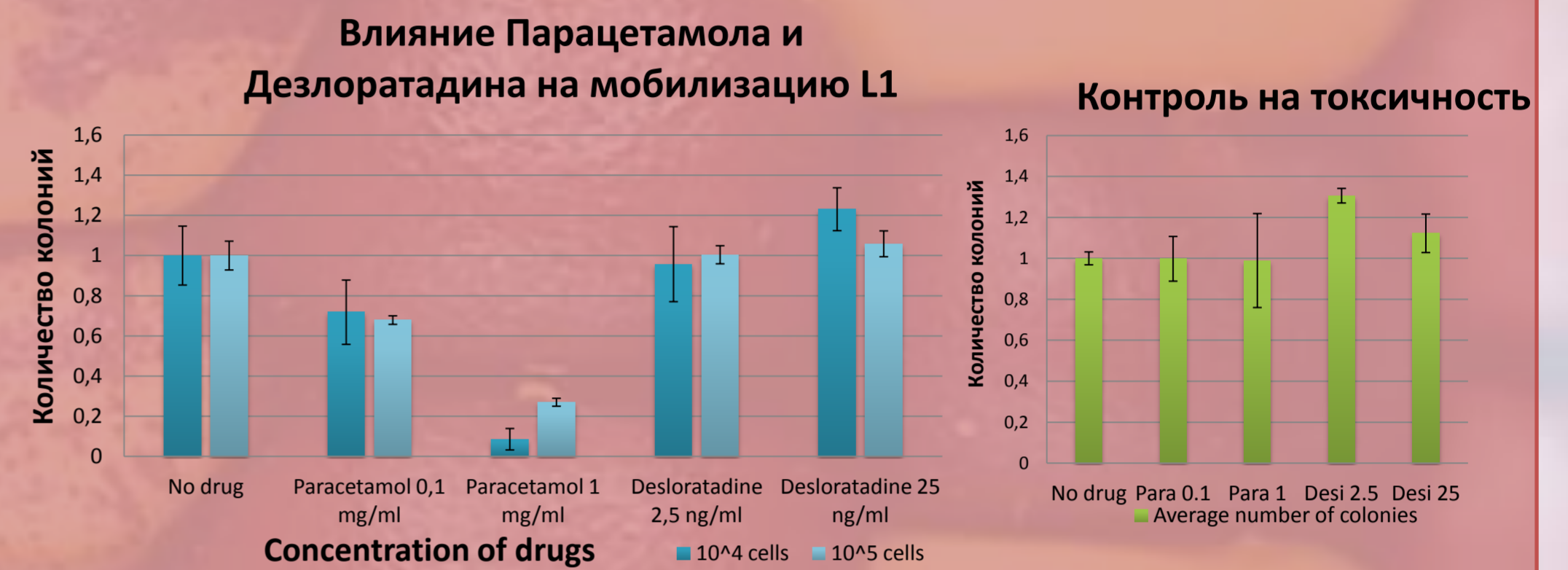
Основной целью данного проекта стало изучение мобилизации транспозона LINE-1 в клетках человека. В частности, мы решили изучить возможное влияние широко используемых лекарственных препаратов, таких, как парацетамол и дезлоратадин (антигистамин) на частоту транспозиции LINE-1. Также, путем сиквенса мы определили позицию встроеного LINE-1 элемента в геноме клеток линии HeLa. Далее, путем анализа генетического окружения исследуемого элемента мы оценили влияние события транспозиции для данного генома.



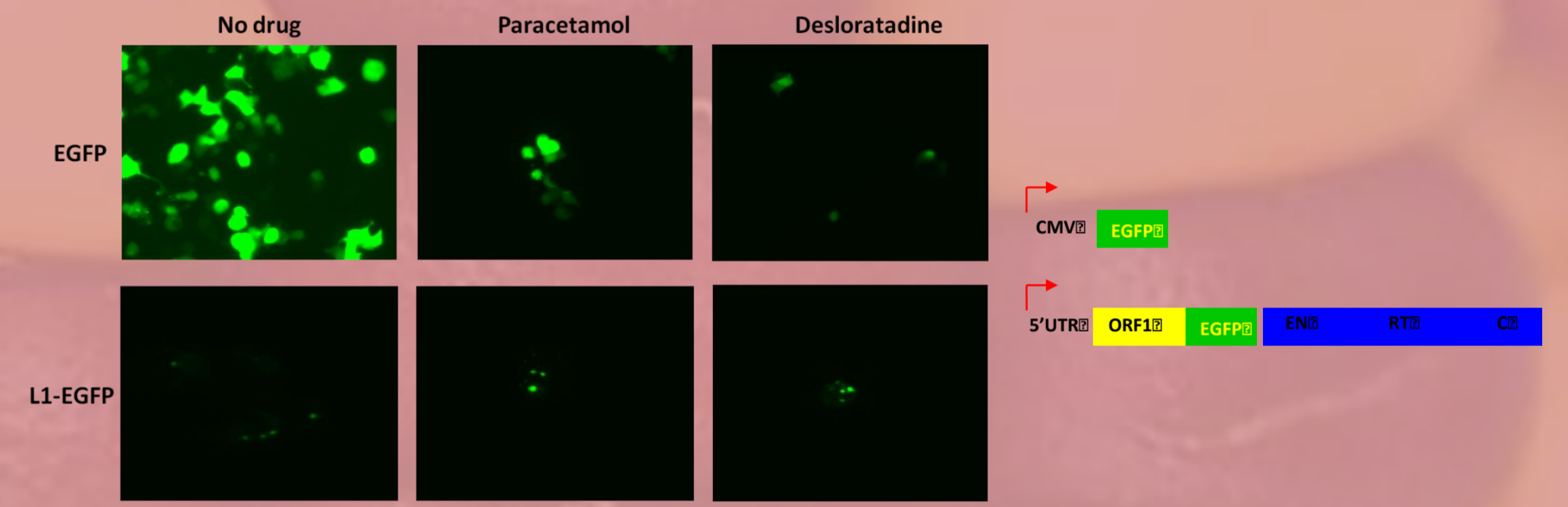
МЕТОДЫ



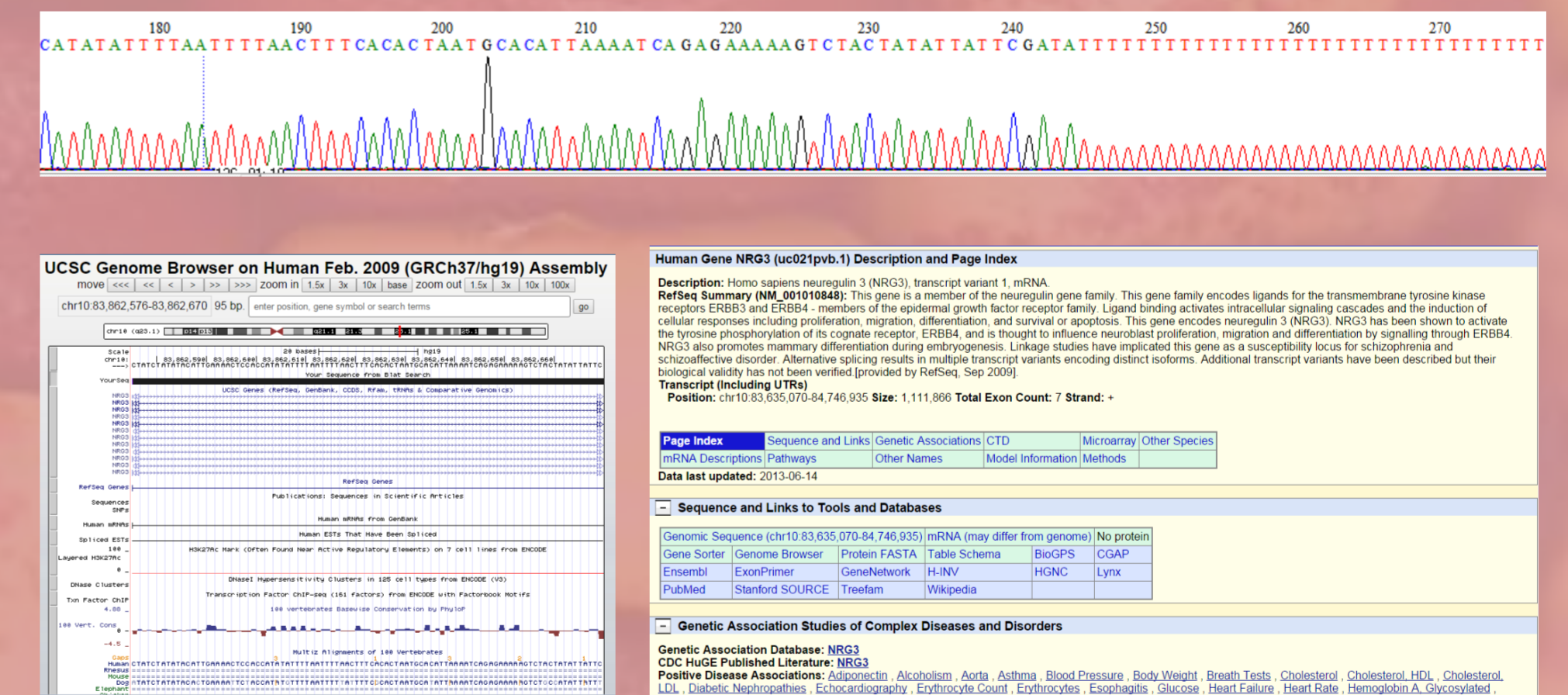
АНАЛИЗ ЧАСТОТЫ РЕТРОТРАНСПОЗИЦИИ



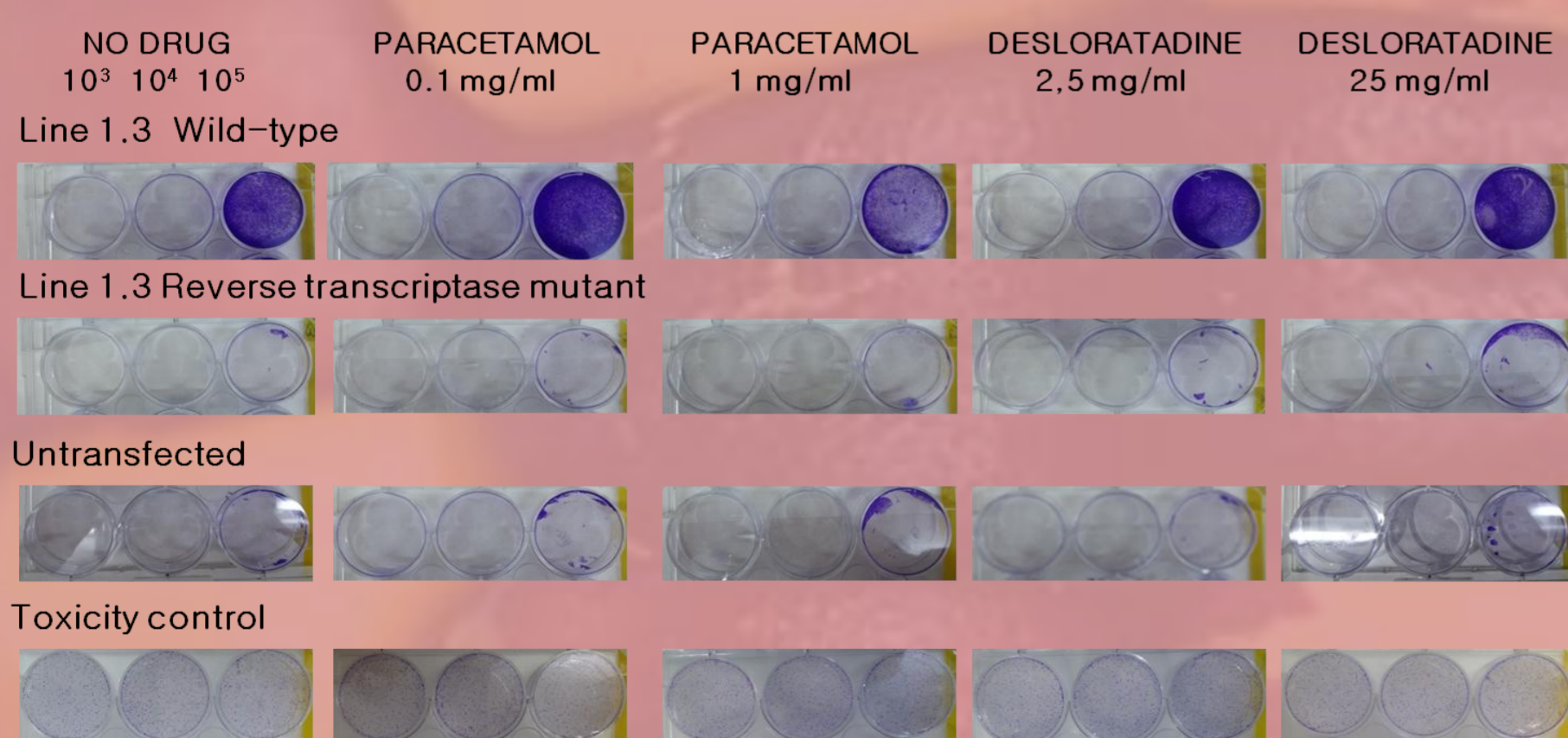
ЛОКАЛИЗАЦИЯ БЕЛКОВ ЭЛЕМЕНТА L1



КАРТИРОВАНИЕ ВСТАВКИ L1



ОЦЕНКА РЕТРОТРАНСПОЗИЦИИ



ВЫВОДЫ

1. Используемые концентрации Парацетамола и Дезлоратадина не токсичны для клеток линии HeLa.
2. Парацетамол снижает уровень ретротранспозиции элемента LINE-1 примерно в 5 раз.
3. Ни Парацетамол, ни Дезлоратадин не оказывает влияние на локализацию белков первой ORC элемента L-1.

ПЛАНЫ НА БУДУЩЕЕ

1. Попробовать влияние других концентраций Парацетамола и Дезлоратадина на мобилизацию LINE-1.
2. Протестировать эффект других медицинских препаратов на ретротранспозицию.
3. Определить механизм ингибирования ретротранспозиции LINE-1 парацетамолом.

БЛАГОДАРНОСТИ

Мы хотим поблагодарить работников Института Биофизики Клетки г. Пущино за помощь в работе с микроскопией. Мы также хотим поблагодарить Фонд Династия за их неоценимую помощь и поддержку, директоров ШМТБ – Федора Кондрашова и Дмитрия Кокорина, а также Марию Тутукину за ее помощь в организации работы лабораторий школы.