

UNIVERSITY OF SOUTH BOHEMIA
FACULTY OF SCIENCE



RNDr. thesis

Splicing of intron-containing transcripts of plant
LTR retrotransposon *Ogre*

Mgr. Veronika Steinbauerová

2008

Steinbauerová V., 2008: Splicing of intron-containing transcripts of plant LTR retrotransposon *Ogre*. RNDr. thesis, in English – 10 p., Faculty of Science, The University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

Ogre elements represent a distinct group of Ty3/gypsy-like LTR-retrotransposons occurring in a range of dicot plants. A specific feature of all *Ogre* elements is a non-coding sequence containing several stop codons separating protease and reverse transcriptase-RNaseH domains. This sequence was predicted to be removed by splicing, thus allowing efficient translation of *rt/rh-int* region in frame with *gag-prot*. Experimental evidence for functional splicing of *Ogre* retrotransposons in *Medicago truncatula* was based on sequence-specific RT-PCR assay. In addition, we also demonstrate splicing of constructs containing the intron from pea *Ogre* element within GFP-GUS reporter gene which was expressed in hairy root culture system.

Prohlašuji, že jsem svoji rigorózní práci vypracovala samostatně pouze s použitím uvedené literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své rigorózní práce (v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou) elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách.

V Českých Budějovicích dne 9. 9. 2008

Veronika Steinbauerová

Molecular Genetics and Genomics

© Springer-Verlag 2008

10.1007/s00438-008-0376-8

Original Paper

Experimental evidence for splicing of intron-containing transcripts of plant LTR retrotransposon *Ogre*

Veronika Steinbauerová^{1,2}, Pavel Neumann¹ and Jiří Macas¹

(1) Institute of Plant Molecular Biology, Biology Centre ASCR, České Budějovice, Czech Republic

(2) Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic

Received: 8 July 2008 **Accepted:** 19 August 2008 **Published online:** 2 September 2008

Communicated by M.-A. Grandbastien.

Abstract

Ogre elements are a distinct group of plant Ty3/gypsy-like retrotransposons characterized by several specific features, one of which is a separation of the *gag-pol* region into two non-overlapping open reading frames: ORF2 coding for Gag-Pro, and ORF3 coding for RT/RH-INT proteins. Previous characterization of *Ogre* elements from several plant species revealed that part of their transcripts lacks the region between ORF2 and ORF3, carrying one uninterrupted ORF instead. In this work, we investigated a hypothesis that this region represents an intron that is spliced out from part of the *Ogre* transcripts as a means for preferential production of ORF2-encoded proteins over those encoded by the complete ORF2–ORF3 region. The experiments involved analysis of transcription patterns of well-defined *Ogre* populations in a model plant *Medicago truncatula* and examination of transcripts carrying dissected pea *Ogre* intron expressed within a coding sequence of chimeric reporter gene. Both experimental approaches proved that the region between ORF2 and ORF3 is spliced from *Ogre* transcripts and showed that this process is only partial, probably due to weak splice signals. This is one of very few known cases of spliced LTR retrotransposons and the only one where splicing does not involve parts of the element's coding sequences, thus resembling intron splicing found in most cellular genes.

Electronic supplementary material The online version of this article (doi: 10.1007/s00438-008-0376-8) contains supplementary material, which is available to authorized users.

Keywords: Retroelements - Transcription - Splicing - *Medicago truncatula* - *Pisum sativum*

Abstrakt

Mobilní elementy *Ogre* tvoří specifickou skupinu Ty3/gypsy-like retrotransposonů. Jedním z jejich charakteristických rysů je rozdělení *gag-pol* oblasti do dvou nepřekrývajících se čtecích rámců: ORF2, který kóduje proteiny Gag-Pro a ORF3 kódující proteiny RT/RH-INT. Již dříve bylo zjištěno, že část *Ogre* transkriptů u několika rostlinných druhů postrádá oblast mezi ORF2 a ORF3; namísto toho je přítomen pouze jeden nepřerušovaný čtecí rámeček. V této práci jsme testovali, zda by tato oblast mohla představovat intron vyštěpující se z části transkriptů, což by mohlo vést k nadbytku proteinů kódovaných ORF2 nad proteiny kódovanými nepřerušeným ORF2-ORF3. Analýza transkripce u definovaných skupin *Ogre* elementů u druhu *Medicago truncatula* stejně jako studium reportérového genu nesoucího intron z *Ogre* elementu hrachu ukázaly, že k sestřihu oblasti mezi ORF2 a ORF3 opravdu dochází a že tento proces je pouze částečný, pravděpodobně kvůli slabým sestřihovým signálům. Toto je jediný případ sestřihu LTR retrotransposonů, který nezahrnuje kódující části elementu, a tudíž se podobá sestřihu intronů buněčných genů.