



EFOP-3.4.3-16-2016-00014

SZÉCHENYI 2020

Mozgó genetikai elemek

Dr. Deák Péter, egyetemi docens

BBTE, Haladó Genetika

Jelen tananyag a Szegedi Tudományegyetemen
készült az Európai Unió támogatásával.

Projektazonosító: EFOP-3.4.3-16-2016-00014

Olvasási idő: 45m perc.



Mozgó genetikai elemek

Mozgó genetikai elemek, vagy transzpozonok, jól elkülönülő DNS szekvenciák, amelyek képesek áthelyeződni a genom egyik pozíciójából egy másikba. Helyváltoztatásukat transzpozíciónak is nevezik. Minden eddig vizsgált organizmusban megtalálhatók, előfordulásuk sok genomban igen nagy méreteket ölthet. Például az emberi genom 45%-át teszik ki transzpozon szekvenciák. A legtöbb mozgó genetikai elem változatos, nem homológ pozíciókba képes inszertálódni egy olyan mechanizmussal, amely eltér a homológ rekombinációtól. Gyakran okoznak mutációkat, vagy úgy, hogy egy génbe inszertálódva működésképtelenné teszik azt, vagy úgy, hogy kromoszóma-átrendeződéseket (deléció, duplikáció és inverzió) indukálnak. Ezért a transzpozonok széles spektrumú mutátor elemeknek tekinthetők, amelyek hozzájárulnak a genom-változatosság létrejöttéhez, és így a genom evolúciójához. A transzpozonok felfedezésének lényegesen szerepe volt egy új genomszemlélet kialakulásában, amely szerint a genom nem statikus, hanem plasztikus, dinamikusan változó entitás.

1. Transzpozonok felfedezése. Barbara McClintock 1950-es években végzett úttörő vizsgálatait vezették a transzpozonok felfedezéséhez kukoricában (*Zea mays*). McClintock a kukorica magok tápszövetében, vagy endospermiumában megjelenő spontán mozaikos színváltozatok genetikai analízisét végezte. Ezek a magszint meghatározó gének a kukorica 9. kromoszómájának gyakori töréséért felelős, Disszociátornak (Ds) nevezett régió közelében helyezkedtek el. McClintock észrevette, hogy a kromoszómatörésekkel egy időben a magszint meghatározó génekben is keletkezett mutáció. Felfigyelt arra is, hogy bizonyos vonalakban a Ds okozta kromoszómatörések és mutációk gyakorisága alacsony, más vonalakban viszont jelentősen megemelkedett volt. Ezen megfigyelései alapján McClintock azonosítani és lokalizálni tudott egy Aktivátor (Ac) elemet, amelynek jelenlétével magyarázta a kromoszómatörések és mutációk megemelkedett gyakoriságát a Ds régióban. Meglepő módon, az Ac elem jelenlétében a Ds pozíciója megváltozott, sőt azt is tapasztalta, hogy az Ac kromoszómális pozíciója is változhat. A Ds és Ac elemek új pozícióiban gyakran keletkeztek új mutációk. Ebből arra következtetett, hogy az Ac és Ds elemek mozogni képesek a kromoszómákon, kivágódhatnak egy adott helyről, majd egy másik régiókba inszertálódhatnak, miközben elronthatják az ott elhelyezkedő gén működését. Később azt is bizonyította, hogy az Ac, vagy Ds elem inszerciójával indukált génmutációk revertálhatók, vagyis az érintett gének funkciója helyreállítható, ha a mutációt okozó elem kivágódik. Érdeemes megjegyezni, hogy Barbara McClintock először nem mozgó elemeknek, vagy transzpozonoknak nevezte az Ac és Ds elemeket, hanem „kontroll elemeknek”, amivel a génműködésre gyakorolt hatásukat akarta hangsúlyozni. Mindenesetre evvel a munkájával Barbara McClintock több mint két évtizeddel megelőzte a hasonló tulajdonságokkal rendelkező mozgó genetikai elemek, az inszerciók szekvenciák (IS) felfedezését baktériumokban. Eredményeinek elismeréseként 1983-ban kapott Nobel-díjat.

2. Mozgó genetikai elemek általános jellegzetességei

Nagyon sok, különböző típusú mozgó genetikai elem létezik: vannak egyszerű felépítésűek, amelyek csak a mozgásukhoz szükséges szekvenciákat tartalmazzák, és komplex felépítésűek is, amelyek a mozgásukkal közvetlenül nem összefüggő funkciókat is kódolnak. Sokféleségük ellenére a mozgó genetikai elemeknek vannak közös tulajdonságaik is.

A legtöbb transzpozonra jellemző az inszerciós helyének tandem duplikációja: DNS-szekvencia szinten a legtöbb transzpozon felismerhető rövid, 2-10 bp-os egyirányú ismétlődésekről, amelyek a legtöbb mozgó genetikai elem végeinél, az inszerciós helyen képződnek. Transzpozíció közben mind a transzpozon végein, mind pedig az új inszerciós helyen egyszálú ragadós végek képződnek, amelyek egymással komplementerek. A transzpozon beépülése során ezek az egyszálú végek összekapcsolódnak, és nukleotid beépülés, valamint ligálás után a transzpozon mindkét végén megjelenik az egyszálú szakasznak megfelelő szekvencia. Az ismétlődések szekvenciája változó, de hossza állandó és jellemző az adott transzpozon típusra. Ezek tehát nem részei a transzpozonoknak, és nem mozognak vele, csupán a transzpozonok beépülési mechanizmusának a következményei.

Terminális invertált ismétlődések: A legtöbb transzpozon végein 9-40 bázispárból álló szekvencia található, amelyek fordított komplementerei egymásnak, azaz fordítottan ismétlődő szekvenciák. Egy-egy transzpozoncsaládon belül ezek a szekvenciák homológok. A terminális invertált ismétlődésekhez kötődik a transzpozon által kódolt transzpozáz enzim, amely katalizálja a transzpozíciót. Létezik olyan transzpozoncsalád (lásd később) amelyben a transzpozonok végeit egy irányba mutató, azaz direkt, vagy tandem terminális ismétlődések határolják. Ezek nem transzpozáz közreműködésével mozognak. Léteznek olyan transzpozonok is, amelyek nem rendelkeznek terminális ismétlődésekkel.

Kódoló szekvenciák: A terminális ismétlődéseikkel közrefogva, az autonóm transzpozonok tartalmazzak egy, vagy néhány gént is. A legegyszerűbb transzpozonok egyetlen gént hordoznak, amely a transzpozíciójukhoz szükséges enzimet, a transzpozázt kódolja. Másoknak több génre van szükségük a mozgáshoz, és vannak olyanok is, amelyek mozgásukhoz nem szükséges géneket is tartalmazzak, például antibiotikum rezisztenciáért felelős gének.

3. Transzpozonok osztályozása

Számos lehetőség kínálkozik a transzpozonok osztályozására. Egyrészt lehetséges csoportosításuk a gazdaszervezetek rendszertani besorolása alapján, így megkülönböztethetők prokarióta - eukarióta, vagy növényi és állati transzpozonok, de csoportosíthatók méretük, a terminális ismétlődéseik megléte, vagy hiánya alapján, és végül komplexitásuk alapján is. Ebben a fejezetben funkcionális szempontból lényeges kétféle osztályozást tárgyaljuk: az önálló mozgásra való képességük és transzpozíciós mechanizmusuk szerinti osztályozást. A mobilis genetikai elemek további ismertetésénél pedig az utóbbi, azaz az elmozdulás módja szerinti osztályozást követjük.

Önállóság szerinti osztályozás: Önálló mozgásra való képességük alapján megkülönböztetünk autonóm és nem autonóm transzpozonokat. Az autonóm transzpozonok tartalmazzak minden olyan szekvenciát, ami lehetővé teszi mozgásukat. Evvel szemben a nem autonóm transzpozonok strukturális értelemben hiányosak, ezért önálló mozgásra képtelenek. Transzpozíció szempontjából függenek a genomban található autonóm elemektől. A nem

autonóm elemek autonóm elemekből jönnek létre úgy, hogy az utóbbiakat felépítő szekvenciák egy része delécióval elvész.

Transzpozíciós mechanizmus szerinti osztályozás: Transzpozíciós mechanizmusuk alapján a transzpozonok két fő osztályba sorolhatók. A **transzpozonok I. osztályába** azok tartoznak, amelyekről RNS intermedieren keresztül, reverz transzkriptáz közreműködésével, készül DNS-másolat és ez inszertálódik a genom új pozíciójába. Az eredeti elem a helyén marad, és normál transzkripcióval ott készül róla RNS templát. Ebbe az osztályba tartoznak a retrotranszpozonok, amelyeken hosszú terminális ismétlődések (LTR) találhatóak, ezért ezeket LTR retrotranszpozonoknak is nevezik. Ugyancsak ide tartoznak a retropozonok, vagy nem-LTR retrotranszpozonok, amelyek nem rendelkeznek terminális ismétlődésekkel.

Retrotranszpozonok: A retrotranszpozonok voltak az első eukariótákban felfedezett retroelemek. Felépítésükben nagyon hasonlóak a retrovírusokhoz. A retrotranszpozonok több ORF-et tartalmaznak, amelyek megtalálhatók a retrovírusokban is, mint például a *gag* (csoport-specifikus antigén) és *pol* (polimeráz). A *pol* ORF kódolja a reverz transzkriptáz, az integrázt, vagy endonukleázt és az RNáz H enzimeket, amelyeknek szerepe van az elem transzpozíciójában, noha ezek száma és kombinációja eltérhet az egyes vonalakban. Az LTR retrotranszpozonok és a belső retrovírusok közötti fő különbség az *envelope* (*env*) gén hiánya, vagy megléte, azonban mindkét csoportban léteznek kivételek. Jól tanulmányozott LTR retrotranszpozonok az élesztőben található *Ty1* és *Ty3* és a *copia* és *gypsy* elemek ecetmuslicában.

Retropozonok: Ezek az elemek nem tartalmaznak LTR szekvenciákat a végeiken és filogenetikailag eltérnek a retrotranszpozonoktól. Két csoportjukat különböztetjük meg, a LINE (*long interspersed nuclear element*) és a SINE (*short interspersed nuclear element*) elemeket. A LINE elemek autonómok, és reverz transzkriptáz segítségével mozognak. A SINE elemek mozgásához azonban szükség van a LINE elem által kódolt enzimek jelenlétére a sejtekben, tehát ez utóbbiak nem autonómok. Az egyik legismertebb LINE az *L1* elem, a SINE elemek közül pedig az *Alu* elemcsalád érdemel említést, mivel ezek széleskörűen és nagy kópiaszámban terjedtek el az eukariótákban, ezért lényeges evolúciós faktort jelentenek a genoméret és diverzitás alakításában. Például az *Alu* szekvenciák a humán genom több mint 10% teszik ki.

Azok a mozgó genetikai elemek, amelyek önálló DNS-mént mozognak, a **transzpozonok II. osztályába** tartoznak. A transzpozíció mechanizmusa szerint két alosztályt különítenek el, a konzervatív (*cut and paste*) és replikatív (*copy and paste*) transzpozonokat. A konzervatív transzpozonokról nem készül másolat a helyváltoztatás során, hanem közvetlenül kivágódnak és új helyre inszertálódnak. Ilyenek a baktériumok inszerciós szekvenciái (IS elemek), mint például az IS1 és IS50 elemek, valamint összetett transzpozonjaik, mint a Tn5, vagy Tn9. Eukarióta transzpozonok közül a transzpozonok felfedezésénél már említett Ac/Ds elemek, és a muslicában található P-elemek tartoznak ebbe az alosztályba. A II. osztályba tartozó replikatív transzpozonok mozgásuk közben (lásd következő alfejezet) replikálódnak szemikonzervatív módon, és ennek eredményeként az eredeti transzpozonból kettő képződik, egyik az eredeti helyen, a másik pedig egy új inszerciós helyen. Replikatív DNS transzpozon a baktériumokban található Tn3 elem. Egy tipikus Tn3 elem 4957 bázispár hosszú és 38 nukleotidpárból álló

invertált terminális ismétlődései vannak, amelyek között három gén található: *tnpA*, *tnpR* és *bla*. A *tnpA* gén transzpozáz, a *tnpR* rezolváz/represszor, a *bla* gén pedig egy béta-laktamáz enzimet kódol. Az első két enzim az elem transzpozíciójához szükséges, a béta-laktamáz az ampicillin antibiotikum elleni rezisztenciát biztosítja.

4. A transzpozíció molekuláris mechanizmusa

Három különböző transzpozíciós mechanizmust ismerünk, amelyek megfigyelhetők prokarióta és eukarióta transzpozonok esetében is. Ezeket konzervatív, replikatív és retrotranszpozíciónak nevezzük. A retrotranszpozíció tulajdonképpen replikatív transzpozíció RNS intermedieren keresztül. Lényeges körülmény, hogy a különböző mechanizmusú transzpozíciók során lejátszódó DNS törési és fúziós reakciók kémiai részletei azonosak.

Konzervatív transzpozíció: A DNS transzpozonok egy része mozog konzervatív, vagy más szóval nem replikatív transzpozíciós mechanizmussal. Ezek a transzpozonok általában egyetlen gént tartalmaznak, amely a kivágódáshoz és áthelyeződéshez szükséges transzpozáz enzimet kódolja. Nem replikatív transzpozíció során a transzpozíciót katalizáló transzpozáz kötődik a transzpozon terminális invertált ismétlődéseihez, majd a végeknél kivágja a transzpozont eredeti helyéről. Ezt követően az enzim - transzpozon komplex kapcsolatot létesít egy új DNS régióval, amelyben egyszálú túlnyúló végeket eredményező hasítást végez, ahova beépül a transzpozon. Ez a transzpozíciós mód nem igényel, vagy csak néhány nukleotidra kiterjedő replikációt igényel a tandem ismétlődések helyén. A konzervatív transzpozícióval kapcsolatosan lényeges megemlíteni egy látszólagos ellentmondást: Noha konzervatív transzpozíció során egyetlen transzpozon helyváltoztatása történik, tehát a transzpozon kópiaszáma nem változhat, azonban a valóságban az tapasztalható, hogy ilyen transzpozíciós mechanizmus esetén is növekszik a transzpozon kópiaszáma a genomban. Hogyan lehetséges ez? A válasz a transzpozíció időzítésében van, ugyanis nagyobb gyakorisággal fordul elő a transzpozon kivágódása replikálódott DNS-ből, mint nem replikálódottból. Ilyen esetekben a kivágódás után visszamaradó kettőszálú DNS törést a javító rendszer szünteti meg, és ez a testvérkromatida templátként való felhasználásával történik.

Replikatív transzpozíció: Bizonyos DNS transzpozonok, mint a Tn3 elem replikatív transzpozícióval mozognak. Replikatív transzpozíció során a transzpozáz egyszálú hasítást végez a transzpozon mindkét végén, amivel 3' szabad végeket hoz létre. Evvel egy időben mindkét szálát elhasítja a célszekvenciában, de nem egymással szemben, hanem néhány nukleotiddal eltolva. Ennek eredményeként egyszálú 5'-túlnyúló, ún. „ragadós” végek képződnek. Ezt követően a transzpozáz összekapcsolja (ligálja) a célszekvencia 5'-túlnyúló végeit a transzpozon 3'-végeivel. Ennek eredményeként tulajdonképpen két replikációs villa jön létre. A replikáció a célszekvencia 5'-végeinél kezdődik (a ragadós végek szintézisével). Amikor a replikáció befejeződik, egy átmeneti struktúra, kointegrátum keletkezik két transzpozon kópiával. Kétszálú kicserélődés történik a transzpozon két kópiája között, vagy a belső rezolúciós helyek (*res*), vagy pedig a transzpozonok homológ szekvenciái között. A két kópia közötti homológ rekombinációval, amit rezolúciónak nevezünk, szabaddá válik a két replikon. A rekombinációs reakciót katalizáló enzim a rezolváz, amelynek azonban létezik egy másik funkciója is: represszálja mind a transzpozáz, mind pedig saját szintézisét. Ez azért

lehetséges, mert a belső rezolúciós hely a *tnpA*, és *tnpR* gének között helyezkedik el, és ehhez kötődve, a rezolváz gátolja mindkét gén expresszióját. Éppen ezért, a Tn3 elem általában nem mozog.

Retrotranszpozíció: A retrotranszpozonok esetében a DNS másolat RNS intermediéren keresztül, reverz transzkripcióval készül. A retrotranszpozonról először terminális ismétlődéseket tartalmazó mRNS készül, amelyről translációval szintetizálódnak a replikációhoz szükséges enzimek, ugyanakkor az mRNS replikon templát is egyben. A replikáció az első DNS (-) szál szintézisével kezdődik egy tRNS primerről, amely az mRNS 5'-vége közelében található PBS primer-kötőhelyhez kapcsolódik. Így a reverz transzkriptáz először az mRNS egyedi 5'-végi (U5) és egy rövid ismétlődő szekvenciát (R) másol le. Ezt követően a ribonukleáz H (RNáz H) leemésztja az RNS szálát az RNS-DNS duplexben. Ez az RNS degradációs lépés felszabadítja a képződő DNS szál 5'-végén található ismétlődő (R) szekvenciát, amely párosodik a 3'-végi R szekvenciával. A végeredmény tulajdonképpen az, hogy a képződő DNS szál R régiója átugrik az mRNS 5'-végéről a másik, 3'-végre. Ezt követően a reverz transzkriptáz tovább tudja szintetizálni az első DNS szálát az mRNS 5'-vége irányába. Ennek befejeztével ismét az RNáz H lép akcióba, és degradálja az RNS-t az RNS-DNS duplexből, kivéve egy rövid, polipurin (A- és G-ből álló) szakaszt. Ez a polipurin szakasz szolgál primerként a második DNS (+) szál 3'-végeinek szintéziséhez. Ennek elkészülte után mind a tRNS, mind pedig az RNS az RNS-DNS duplexekből degradálódik. Ez lehetővé teszi, hogy a második szál 3'-végén található PBS szekvencia párosodjon az első szál 5'-végi komplementer PBS szekvenciájával. Ezt követően a két DNS szál 3'-OH végeiről ismét DNS szintézis indulhat, amely befejeztével az eredeti retrotranszpozon teljes DNS másolata elkészül. Fontos kiemelni, hogy a retrotranszpozon mindkét végén képződik U3, R és U5 szakaszokból álló LTR szekvencia. Ezek a retrotranszpozon DNS genomikus integrációjához szükségesek. A DNS-másolat integrációját az integráz enzim katalizálja.

5. A transzpozíció következményei

Mivel a transzpozonok génekbe, vagy gének közelébe inszertálódva befolyásolhatják, vagy gátolhatják azok működését, ezért a transzpozonok mutagéneknek tekinthetők. Kiderült, hogy a *Drosophilában* megvizsgált spontán mutációk több min fele valamilyen transzpozon inszerciójának a következménye volt funkcionáló génekbe. Eddig mintegy 70 esetben dokumentáltak betegséget okozó transzpozon inszerciót emberben. Noha a legtöbb transzpozon inszerciónak káros hatása van, ritkán előfordult, hogy egy-egy inszerció előnyös lehet a gazdaszervezet számára. Például a baktériumok transzpozonjai hordozhatnak antibiotikum rezisztenciát kódoló géneket, vagy több transzpozon inszerció eredményezett inszekticid rezisztenciát rovarokban.

Transzpozonok általában nagy kópiaszámban fordulnak elő a genomban, ezért rendellenes, vagy ektopikus rekombináció játszódhat le közöttük, amely különböző kromoszóma-átrendeződéseket eredményezhet. Egymáshoz viszonyítva tandem orientációban elhelyezkedő transzpozonok közötti rekombináció deléciókat eredményez. Evvel szemben ellentétes orientációjú transzpozonok közötti rekombináció inverzióhoz vezet. Végül leánykromatidák szabálytalan párosodásakor lejátszódó rekombináció két transzpozon között egyenlőtlen

kicszerélődést okoz, ami az egyik kromoszómán deléciót, a másikon pedig duplikációt eredményez. Kromoszóma-átrendeződéshez vezethet egy „cut and paste” transzpozon kivágódása is, ha a kivágódás eredményeként visszamaradó kettősszálú DNS-törés nem javítódik ki gyorsan és megfelelően. Ekkor kromoszóma-törés és transzlokáció képződhet. Éppen egy ilyen eseményre figyelt fel Barbara McClintock, és ennek tanulmányozása vezetett a transzpozonok felfedezéséhez. Hasonlóan a transzpozonok okozta génmutációkhoz, az általuk okozott kromoszóma-átrendeződések is általában károsak, de azért ezek között is van kivétel. Például a *Rider* transzpozon kópiái közötti ektopikus rekombinációval létrejött duplikáció eredményezte a paradicsom hosszúkás termését.

6. Transzpozonok felhasználása

Nyilvánvaló biológiai jelentőségükön túl, néhány modellorganizmusban található transzpozon felhasználása hatékony módszertani újítások kifejlesztéséhez vezetett, amelyek szinte forradalmasították a genetikai analízist, hisz soha nem remélt gén- és genommanipulációs hatékonyságot és precizitást tettek lehetővé. Az alábbiakban ismertetett kísérleti technikák, a könnyebb érthetőség kedvéért kizárólag a *Drosophila* P-elemére épülnek.

Genetikai transzformáció: Idegen DNS sejtekbe juttatásához általában valamilyen közvetítő közegre, vagy vektorra van szükség. Ez sokáig csak prokariótákban volt lehetséges. A transzpozonok megismert tulajdonságai elvezettek ahhoz a felismeréshez, hogy felfoghatók természetes vektorként, melyekkel lehetséges gének sejtekbe juttatása és kromoszómákba való inszertálása. Ennek lényege, hogy egy transzpozon mozgásához csak a fordított ismétlődéseket tartalmazó 100-150 bázispáros két terminális szekvencia szükséges és maga a transzpozáz. Más szóval, a végek közé szinte bármilyen DNS szekvencia (gén) beilleszthető, és az így létrehozott konstrukciót transzpozázzal együtt sejtekbe injektálva az idegen DNS szekvencia – a módosított transzpozonnal együtt beinszertálható a genomikus DNS-be. Az első genetikailag transzformált soksejtű eukarióta az ecetmuslica lett, amit 1982-ben Gerald Rubin és Allan Spradling állítottak elő P-elemek felhasználásával. Először két bakteriális plazmidot készítettek, amelyek P-elem szekvenciákat tartalmaztak. Az egyik plazmid egy teljes P-elemet tartalmazott, amelyről *in vivo* aktív transzpozáz képződhetett. A másik plazmid csak a P-elem 5'- és 3'-végi szekvenciáit tartalmazta, amelyek közé Rubin és Spradling beklónozták a vad típusú szemszínért felelős *white* (*w*) gént. Ezt követően a két plazmid keverékét *Drosophila* embriók csiraplazájába injektálták, ahol azok az ősvarsejtek találhatók, amelyekből a kifejlődő élőlény ivarsejtjei képződnek. Ezek az embriók homozigóták voltak a *white* gén egyik recesszív mutációjára, tehát fehérszeműek voltak. A kutatók azt remélték, hogy az embriókban a teljes P elemről képződik aktív transzpozáz, amely katalizálja a másik plazmidon lévő, *white* gént hordozó, módosított P-elem transzpozícióját a plazmidról az egyik kromoszómára. Amikor az állatok felnőttek, fehérszemű, homozigóta *white* mutánsokhoz keresztezték őket és utódaik között vad típusú, azaz piros szemű egyedeket kerestek. Örömeikre sok ilyet találtak, ami arra utalt, hogy a módosított, nem autonóm P-elem által hordozott vad típusú szemszín meghatározó gén sikeresen beépült az injektált embriók ősvarsejtjeinek egy részébe. Tulajdonképpen Rubin és Spradling hajtotta végre sikeresen az első génterápiás kísérletet, hisz korrigálták a muslicák mutáns szemfenotípusát egy vad típusú génkópia genomba inszertálásával.

Inszerációs mutagenézis: Transzpozonokat már az 1980-as évektől használtak mutagenézisre és gének megjelölésére, mert inszeríciójuk sokkal könnyebben detektálható, mint más mutagének hatása. Az ecetmuslicában található P-elemek különösen hatékonyak bizonyultak mutagenézisre, mivel nagy gyakorisággal mozog, és mozgása szabályozható az elem által kódolt transzpozáz mennyiségével. Kezdeti próbálkozásokban sok, természetes P-elem mobilizálásával állítottak elő mutáns vonalakat. Azonban ezek több P-elem inszeríciót is hordoztak, ezért közvetlenül nem voltak alkalmasak genetikai és molekuláris analízisre a felesleges P-elemek eltávolítása nélkül. Ezt időigényes, extenzív kikeresztésekkel lehetett megvalósítani. Az előző bekezdésben ismertetett P-elem függő transzformáció tette lehetővé olyan vonalak létrehozását, amelyek csupán egyetlen, genetikailag módosított P-elemet tartalmaznak. Allan Spradling és munkatársai 1988-ban demonstrálták, hogy egyetlen genetikailag módosított P-elem mobilizálható és alkalmas stabil inszerációs mutánsok előállítására. A mutagenézis két transzgenikus törzs keresztezésével kezdődik, amelyek egy-egy speciálisan módosított, nem autonóm P-elemet tartalmaznak. Az egyik törzs hordoz egy olyan „*jumpstarter*”-nek nevezett elemet, amely kódolja és expresszálja a P-specifikus transzpozázt, azonban egyik invertált terminális ismétlődésének mutációja miatt önálló mozgásra képtelen. A másik törzsben található „*mutátor*” P-elem normális terminális szekvenciákkal rendelkezik, viszont a transzpozázt kódoló szekvenciák helyett szelekciót és klónozást lehetővé tevő szekvenciákat hordoz. A keresztezés utódai között azokban az állatokban, amelyek mindkét módosított P-elemet hordozzák, a *jumpstarter* elem hatékonyan mobilizálja a *mutátor* elemet. A mobilizációt követő keresztezések lehetővé teszik olyan random *mutátor* inszeríciót hordozó vonalak létesítését, amelyek nem hordozzák a *jumpstarter* elemet, így stabilak maradnak. Ennek a kísérleti elrendezésnek a felhasználásával inszerációs mutánsgyűjtemények jöttek létre, amelyekben minden vonal ideálisan egyetlen P-elem inszeríciót tartalmaz valamelyik *Drosophila* génben, vagy közvetlen környezetében. Ezek az inszeríciók nemcsak a mutáns fenotípus vizsgálatát tették lehetővé, hanem, a P-elembe épített specifikus szekvenciák révén, az érintett gén tér és időbeli működésének meghatározását, valamint gyors klónozását és nukleotid-szekvenciájának meghatározását is.