
Regulacja transkrypcji genów eukariotycznych

Dr hab. Marta Koblowska, prof. UW
Zakład Biologii Systemów, Wydział Biologii UW
Pracownia Analiz Mikromacierzy i Sekwencjonowania UW/IBB PAN

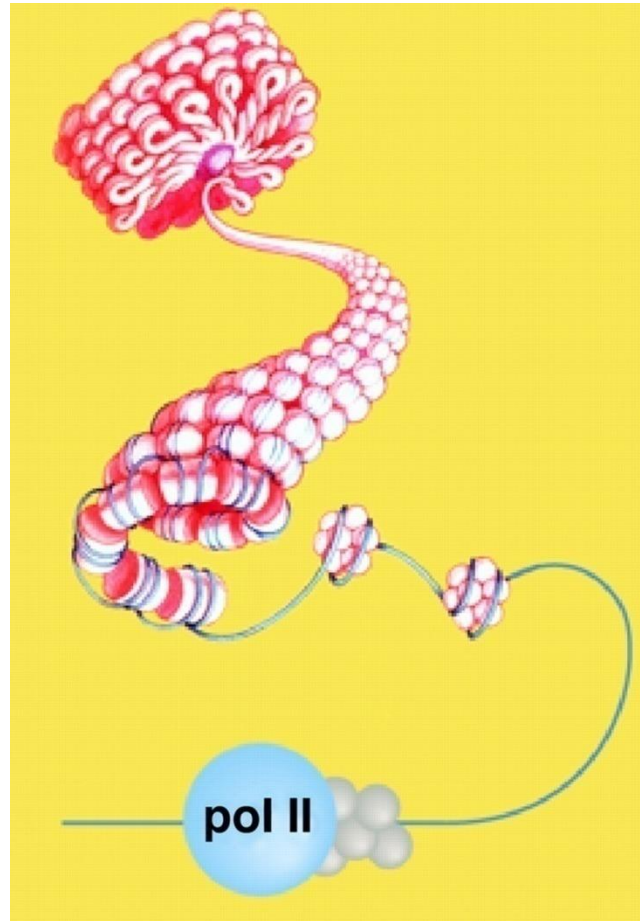
Regulacja inicjacji transkrypcji

Czynniki transkrypcyjne i koaktywatory

- Podstawowe – wspólne dla wielu promotorów, wiązanie w proksymalnej części promotora
- Specyficzne (tkankowo, w odpowiedzi na sygnały regulacyjne, w rozwoju), wiązanie w dystalnej części promotora i w enhancerach
- Koaktywatory –uczestniczą w aktywacji transkrypcji, ale nie wiążą się z DNA. Działają przez oddziaływania z białkami kompleksu transkrypcyjnego
 - Kompleks mediatora jest ogólnym koaktywatorem polimerazy II

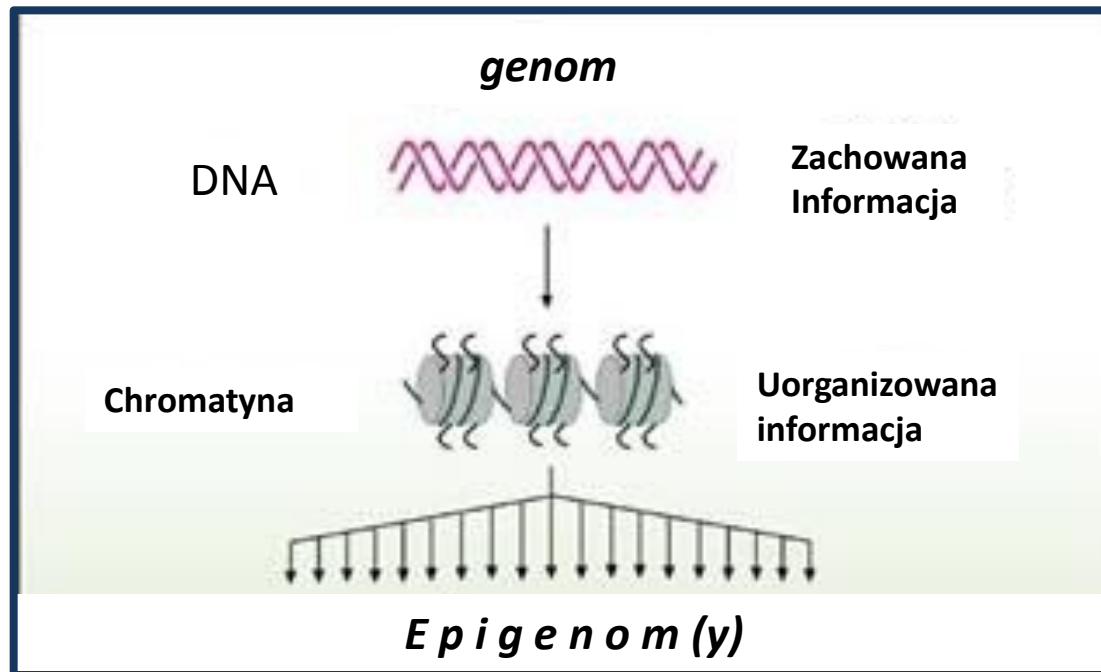
INICJACJA ELONGACJA TERMINACJA

Transkrypcja genów eukariotycznych zachodzi w chromatynie



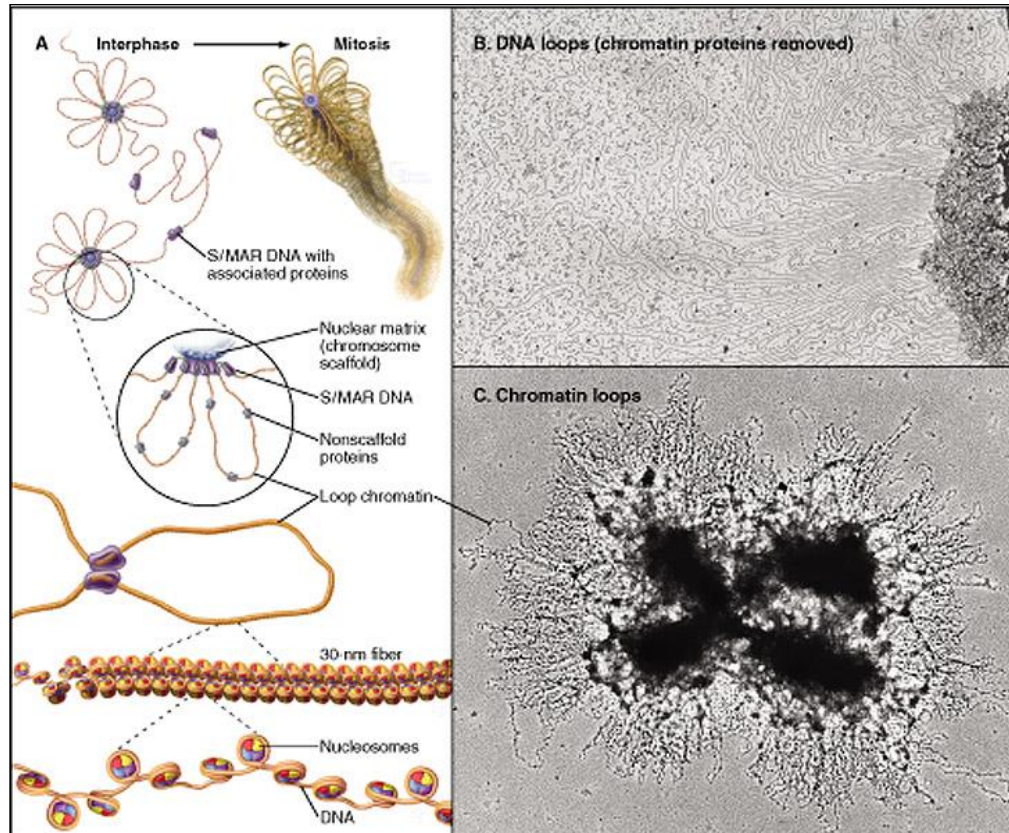
Kornberg R D PNAS 2007;104:12955-12961

Struktura chromatyny pozwala na różny sposób odczytania informacji zawartej w DNA. Możliwe staje się ustanowienie specyficznych wzorów ekspresji genów

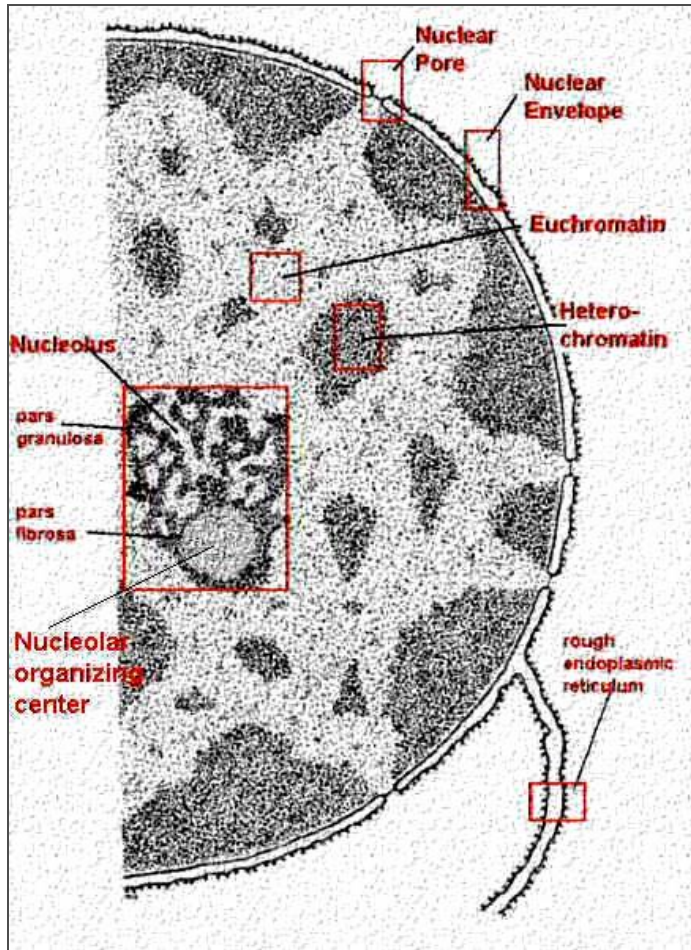


Całościowy obraz struktury chromatyny i mechanizmów kontrolujących ją

KOLEJNE STOPNIE KONDENSACJI CHROMATYNY



Dwa podstawowe stany chromatyny



Heterochromatyna

konstytutywna – jest obecna stale w komórce, DNA wchodzący w jej skład nie zawiera genów, dzięki czemu zachowuje zwartą strukturę (obszary centromerów i telomerów)

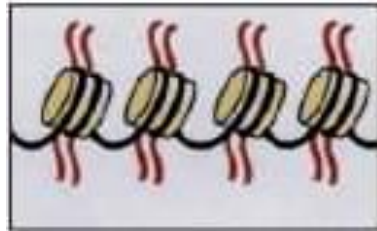
fakultatywna – ta forma chromatyny pojawia się w jądrze okresowo i tylko w niektórych komórkach, prawdopodobnie zawiera geny nieaktywne w czasie niektórych faz cyklu komórkowego,

Euchromatyna – to luźno upakowana forma chromatyny, zawierająca geny aktywne transkrypcyjnie

Dwa podstawowe stany chromatyny

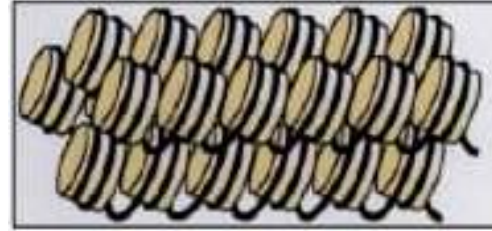
Euchromatyna

dostępna,
plastyczna
Komórki:
macierzyste
młode
nowotworowe

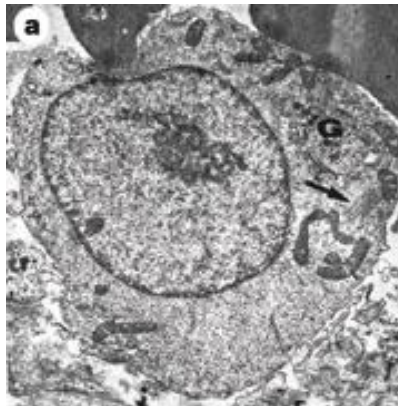


Heterochromatyna

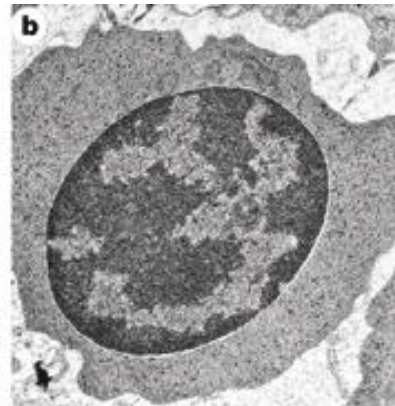
niedostępna,
nieplastyczna
Komórki:
zdeteminowane,
zróżnicowane
normalne



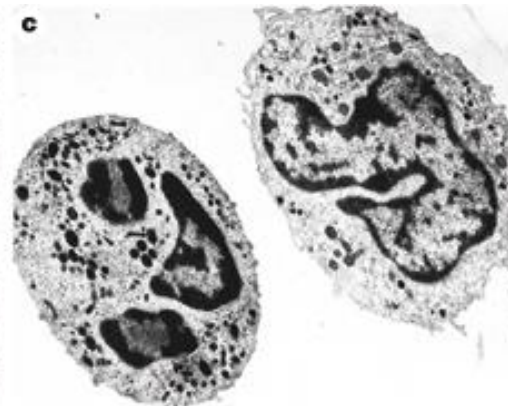
Komórki hematopoetyczne szpiku kostnego



Proerytroblast



Późny erytroblast

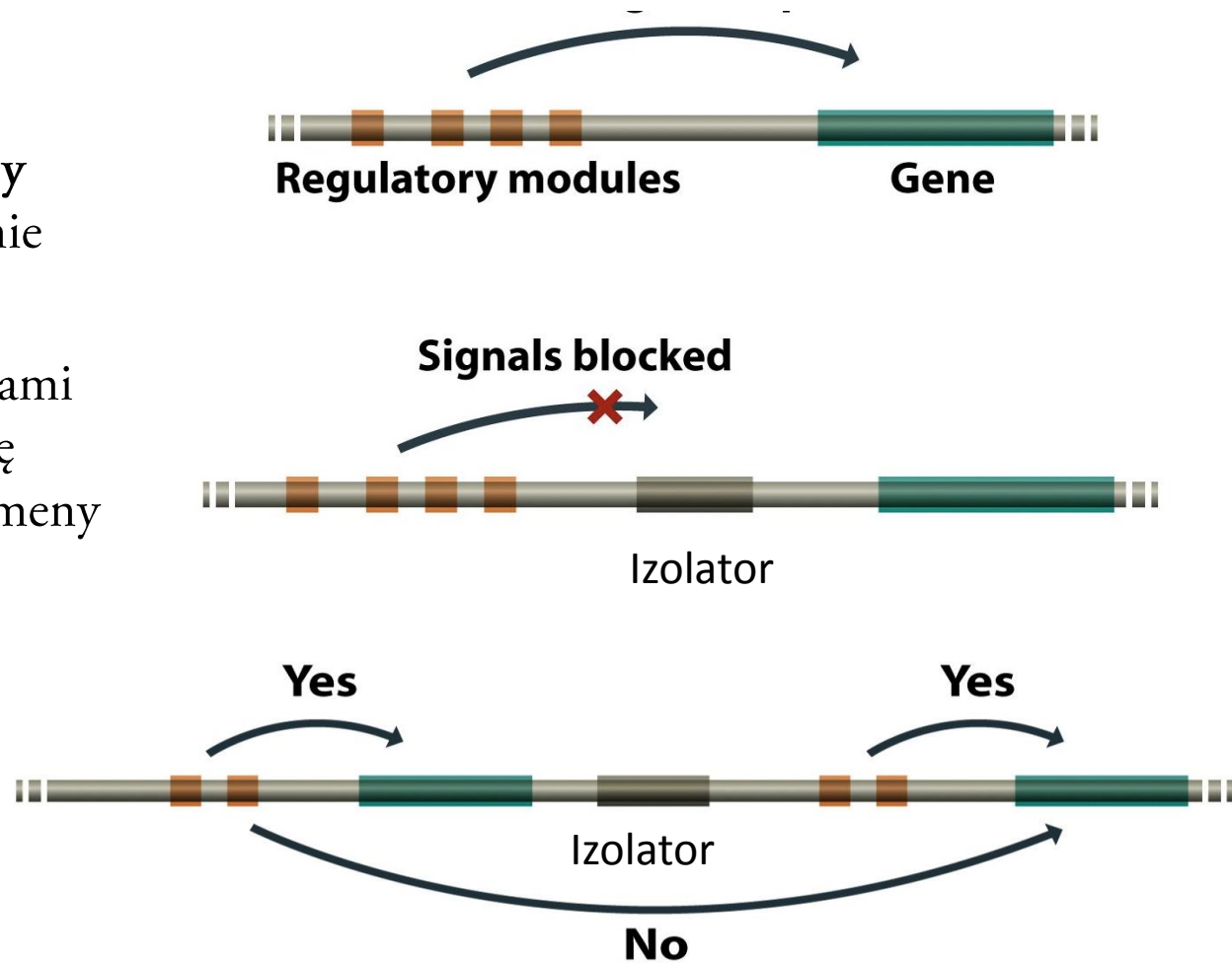


Granulocyt

Monocyt

Domeny funkcjonalne i izolatory

- Izolatory oddzielają domeny funkcjonalne w chromatynie
- Białka wiążące się z izolatorami uniemożliwiają interferencję regulatorów z sąsiedniej domeny (innych genów)



Obszary kontrolujące *loci*

- **LCR** (*locus control regions*) – utrzymują domeny funkcjonalne **otwarte**, czyli aktywne transkrypcyjnie

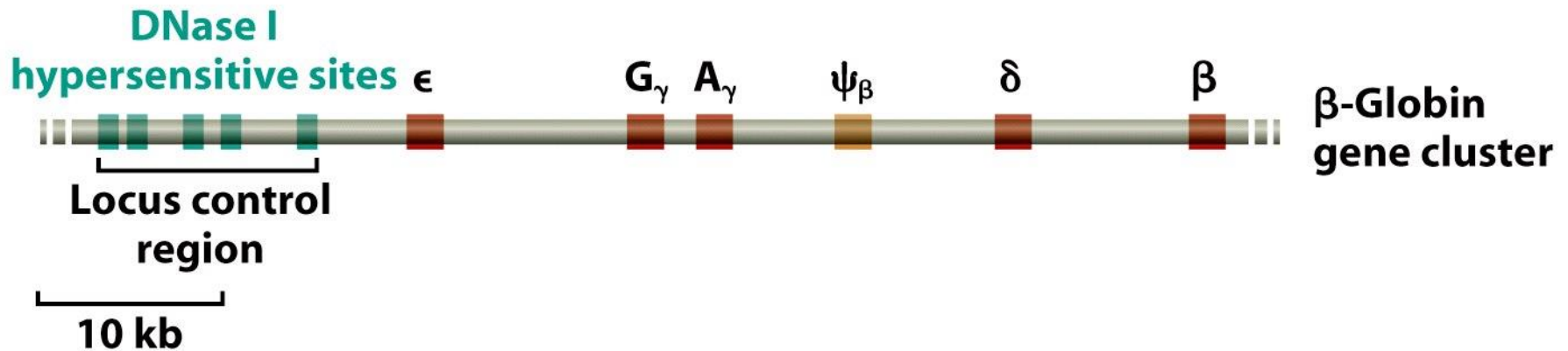


Figure 10-10 Genomes 3 (© Garland Science 2007)

Mechanizmy molekularne odpowiedzialne za procesy epigenetyczne

Metylacja DNA

Histony:

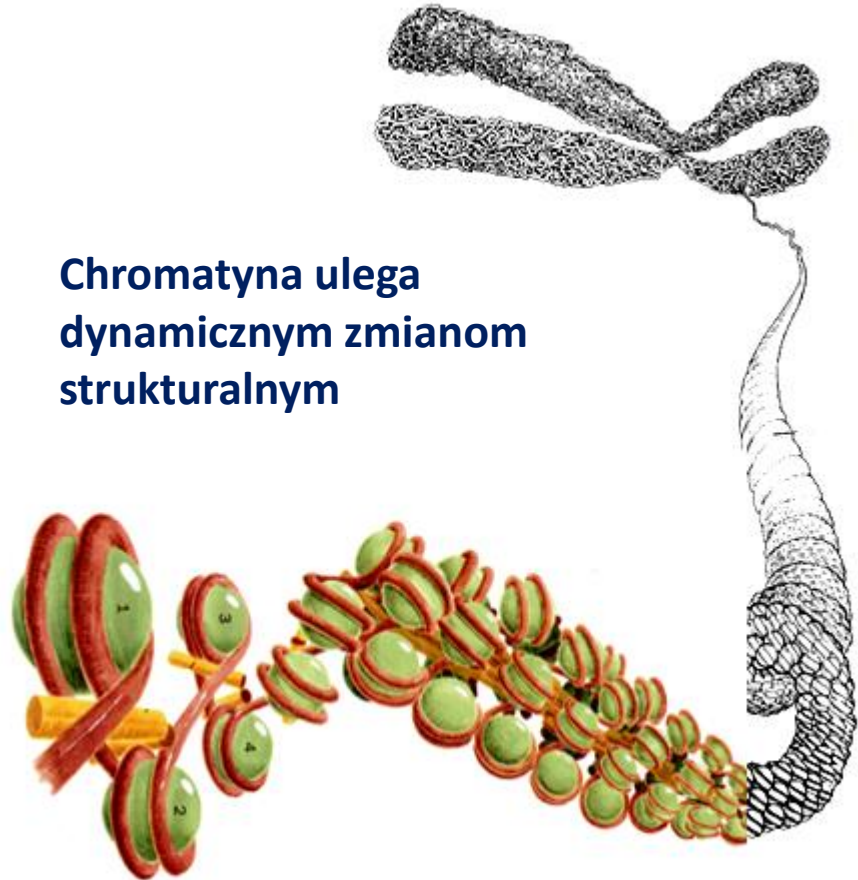
warianty histonowe
modyfikacje potranslacyjne

Przebudowywanie chromatyny

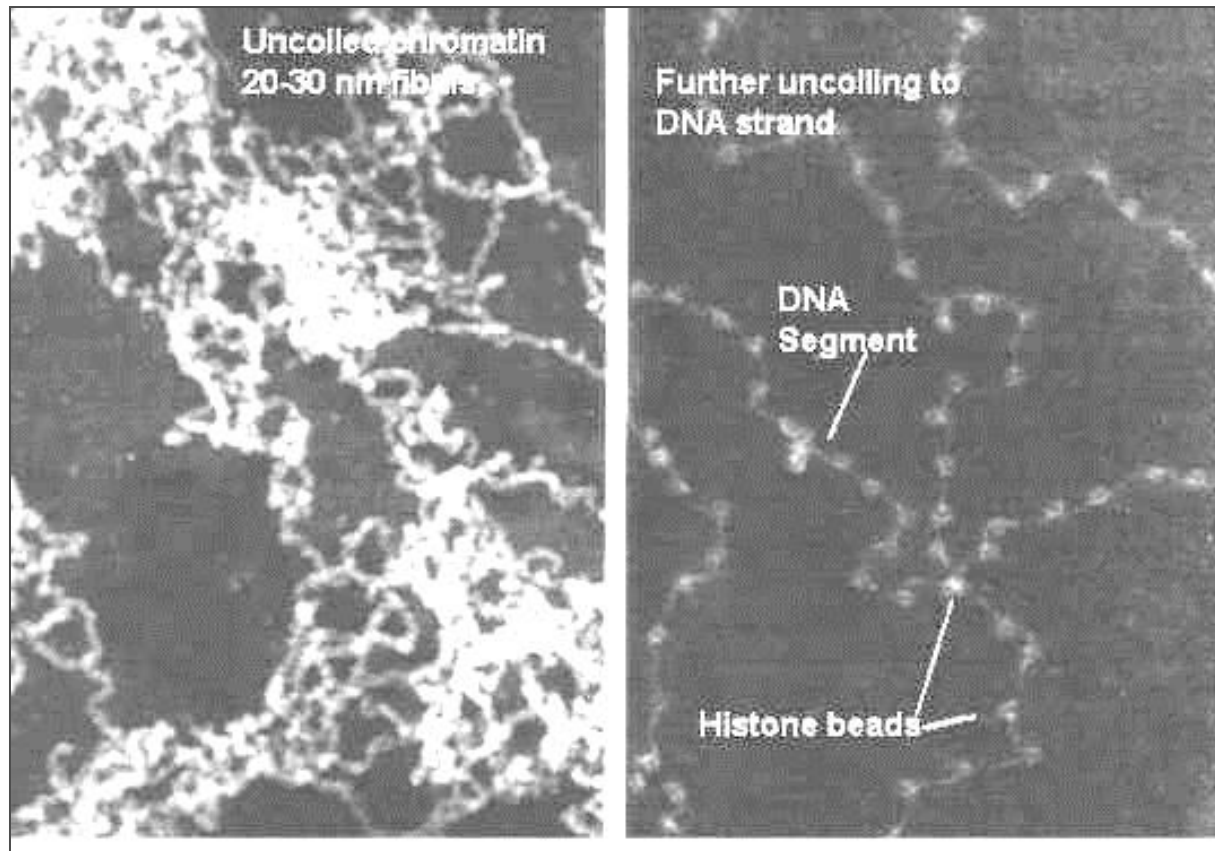
Niehistonowe białka (PcG i TrX)

Niekodujący RNA

Chromatyna ulega dynamicznym zmianom strukturalnym



Chromatyna – preparaty mikroskopowe



•<http://cellbio.utmb.edu/cellbio/nucleus2.htm>

Trawienie chromatyny nukleazą mikrokokalną



Courtesy of Dr. D. Hewish, CSIRO.
Noncommercial, educational use only.

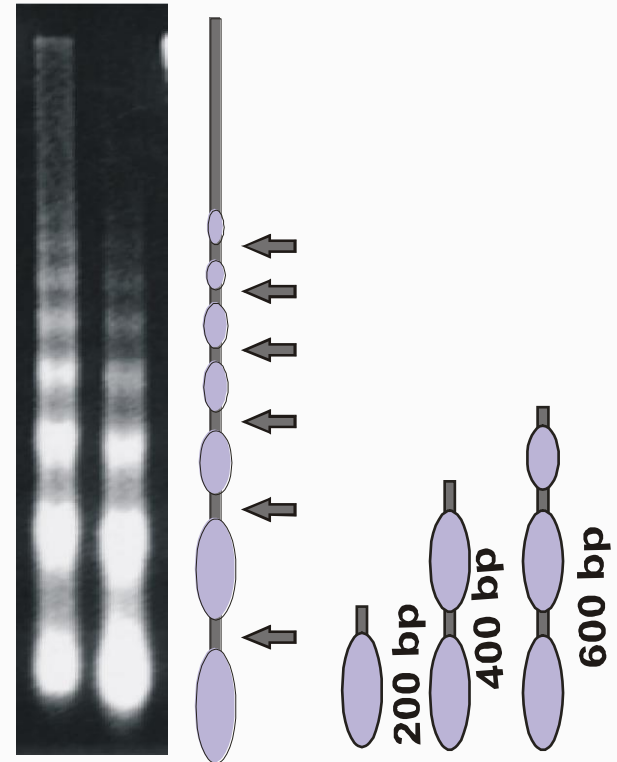


Courtesy of Dr. L. Burgoyne, Flinders University.
Noncommercial, educational use only.

Dean Hewish i Leigh Burgoyne

w 1973 r. wyizolowali z wątroby szczura nukleazę DNA, którą trawili chromatynę. Po trawieniu otrzymali specyficzny wzór powtarzających się prążków.

Chromatyna



Struktura chromatyny

DNA + związane białka

1. Histony (małe, zasadowe białka)
2. Niehistonowe białka regulatorowe

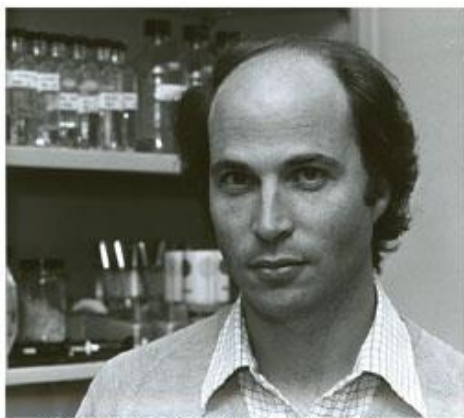
We wszystkich stanach chromatyny białka są związane z DNA, a różnice strukturalne wynikają z różnego stopnia upakowania chromatyny

PODSTAWOWE BIAŁKA BUDUJĄCE CHROMATYNĘ TO
HISTONY –
najbardziej konserwowane ewolucyjnie białka u *Eucariota*

Histony H3 i H4 : bogate w argininy, najbardziej konserwowane ewolucyjnie sekwencje białkowe

Histony H2A i H2B : wzbogacone w lizyny, sekwencje konserwowane ewolucyjnie

Histon H1 : bardzo bogaty w lizyny, sekwencja białkowa słabiej konserwowana ewolucyjnie, związany z nukleosomem poza jego rdzeniem

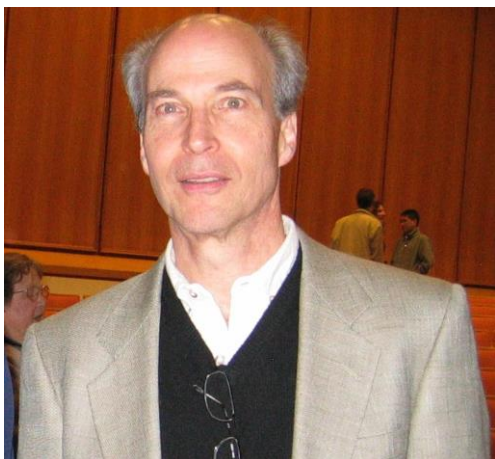


Courtesy of Dr. E. Kornberg, Stanford University. Noncommercial, educational use only

Roger Kornberg

w 1974 r. zaproponował model budowy nukleosomu, w którym DNA owinięty jest wokół rdzenia histonowego tworząc nukleosom

NUKLEOSOM JEST PODSTAWOWĄ JEDNOSTKĄ STRUKTURALNĄ CHROMATYNY

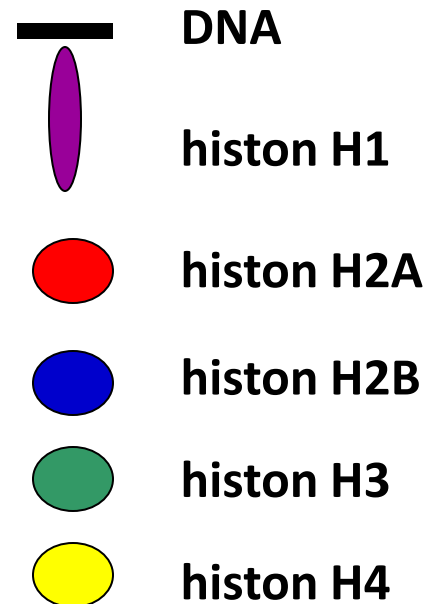
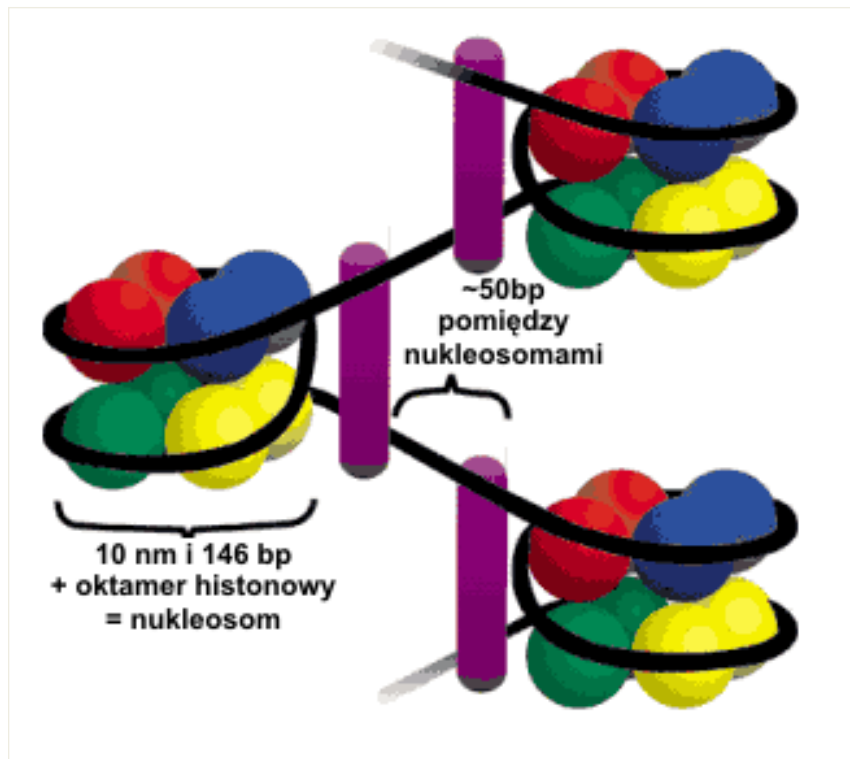


Laureat Nagrody Nobla w dziedzinie Chemii w 2006

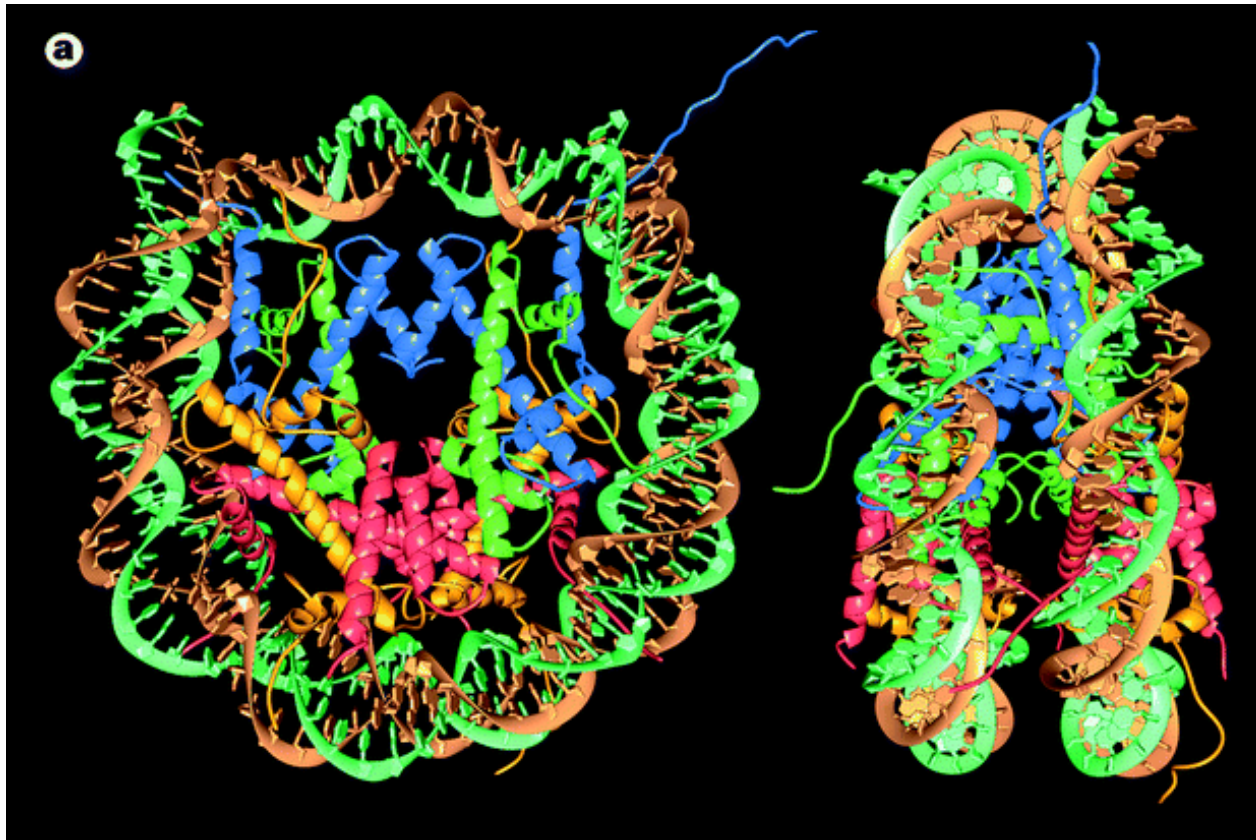
Nukleosom zbudowany jest z rdzenia białkowego, z około 147 bp DNA owiniętego wokół rdzenia oraz z 50 bp DNA łącznikowego

Rdzeń składa się z dwóch kopii każdego z histonów H2A, H2B, H3 i H4

Poza rdzeniem nukleosomu dołączony jest histon H1



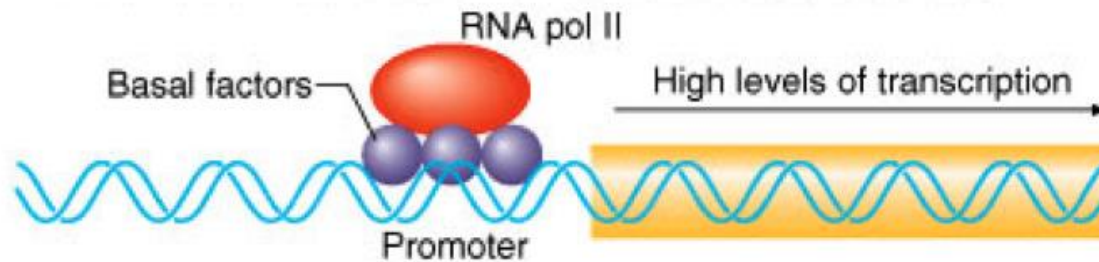
Struktura Krystaliczna Nukleosomu



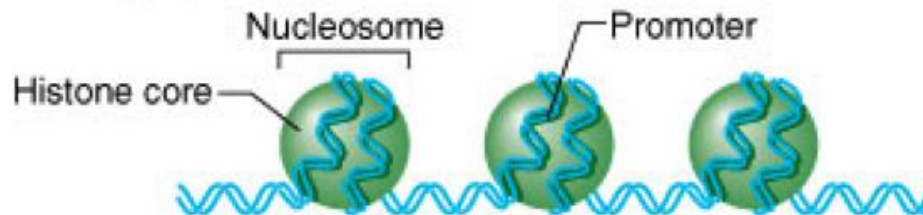
Luger K, Mader AW, Richmond RK, Sargent DF, Richmond TJ.
Nature 1997 Sep18;389(6648):251-60

Regulacja dostępności chromatyny

odsłonięty promotor dostępny dla czynników transkrypcyjnych



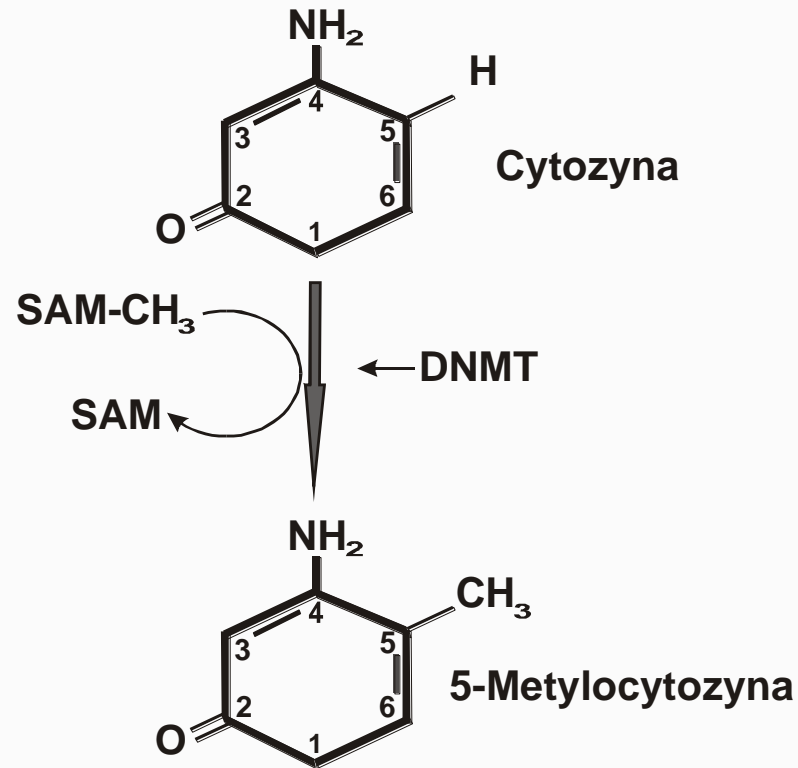
struktura chromatyny ogranicza wiązanie czynników transkrypcyjnych



Modyfikacje struktury chromatyny wpływające na regulację procesu transkrypcji

1. Metylacja DNA

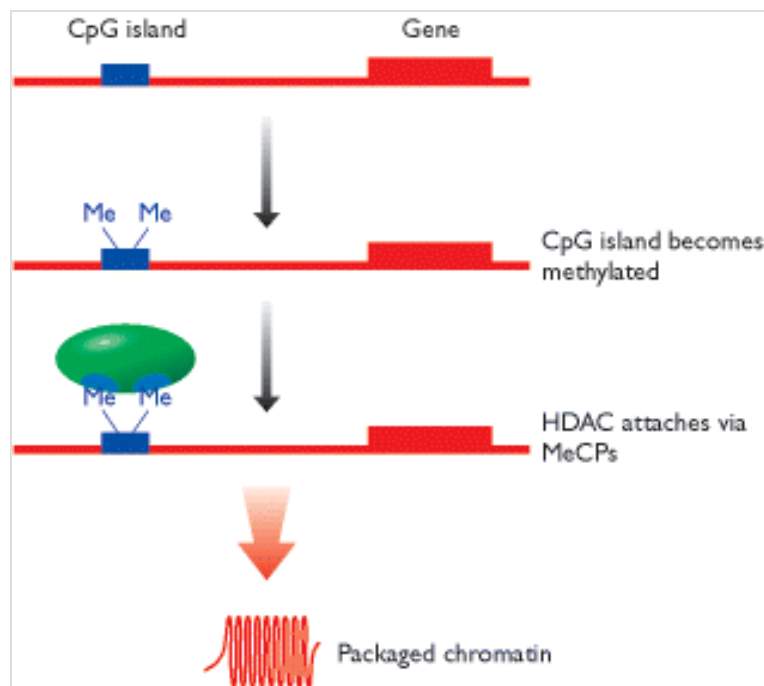
Metylacja DNA: przyłączenie grupy metylowej do cytozyny



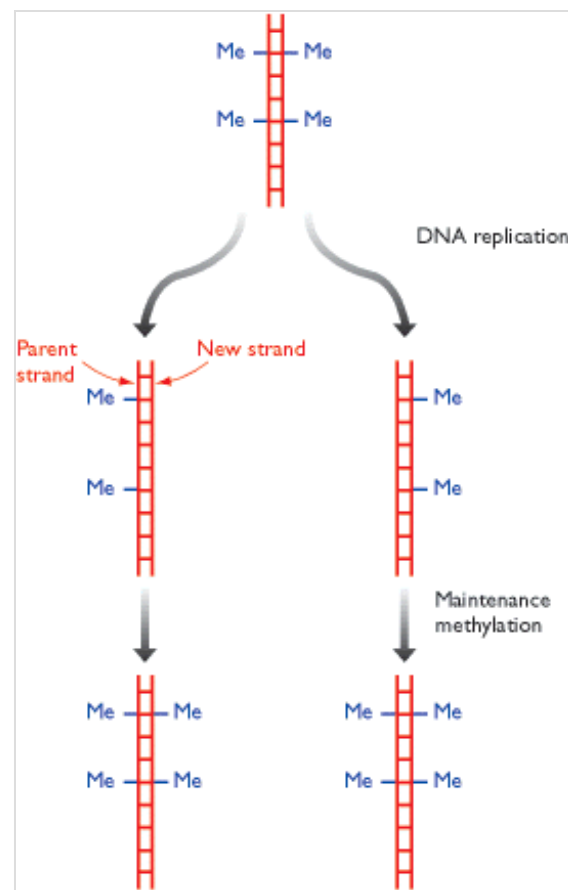
Metylacja DNA

(u ssaków metylacji podlegają głównie sekwencje CpG, do 10% cytozyn jest metylowanych u ssaków)

- powoduje zamknięcie danego obszaru chromatyny
- może być podtrzymywana podczas podziałów komórkowych
- może powstawać *de novo*



metylacja DNA a struktura chromatyny



podtrzymywanie wzoru metylacji DNA

Metylacja DNA odgrywa ważną rolę w regulacji ekspresji genów oraz w dziedziczeniu epigenetycznym

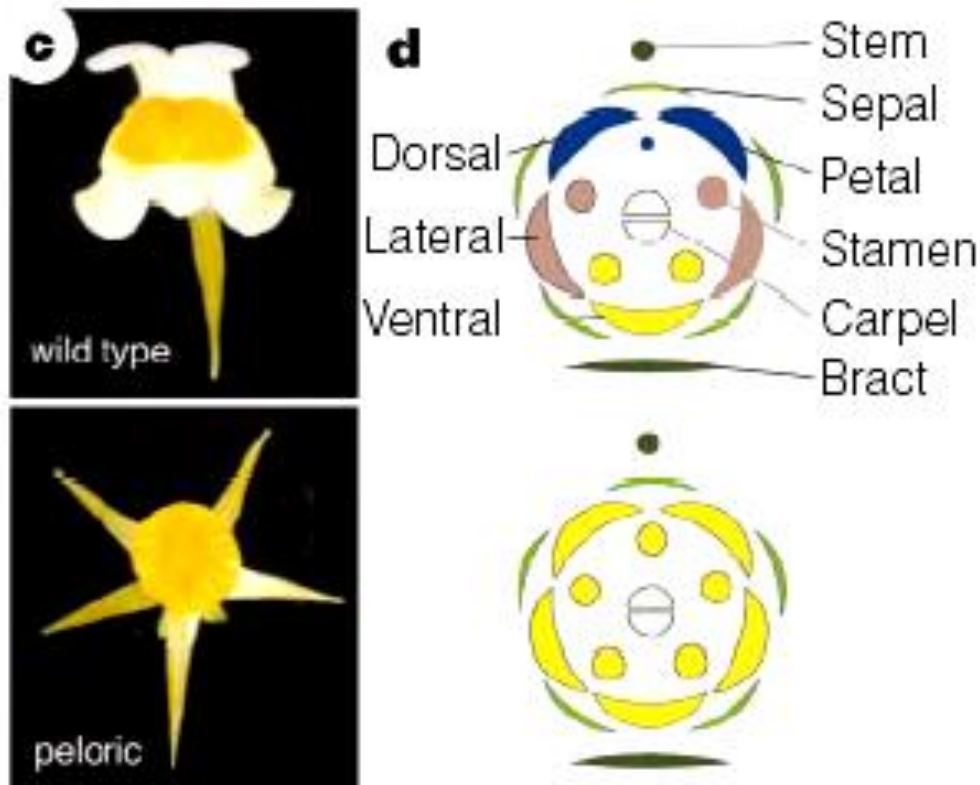
Epigenetyczna regulacja genów to zjawisko polegające na dziedziczeniu poziomu ekspresji genów, niezależnie od zmian w sekwencji DNA

Metylacja DNA odgrywa podstawową rolę w inaktywacji chromosomu X. Dzięki inaktywacji jednego z chromosomów X, u samic tak jak i u samców aktywna jest tylko jedna kopia genów sprzężonych z płcią.

Metylacja DNA utrzymuje się podczas mitozy, u zwierząt w procesie mejozy jest usuwana

Metylacja DNA jest znacznikiem epigenetycznym decydującym o prawidłowym zachodzeniu piętna genomowego (ang. genetic imprinting), znacznik ten jest niezbędny do utrzymania mono-allelicznej ekspresji piętnowanego genu (np. gen Igf2 – koduje czynnik wzrostowy, wyłącznie allel od ojca jest aktywny). Proces ten jest niezbędny do właściwego rozwoju.

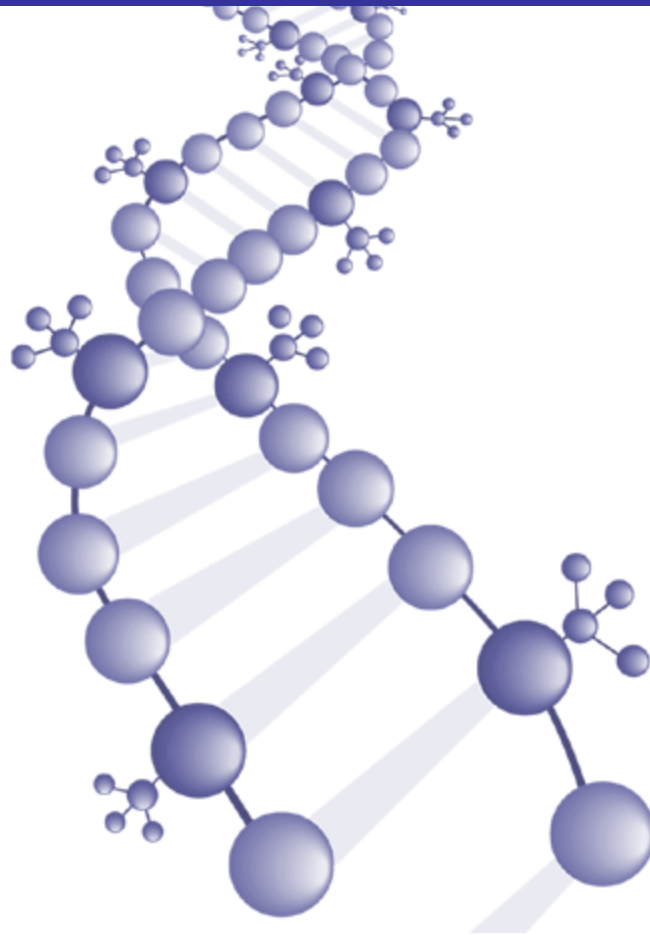
Przykład epimutacji (zmiana we wzorze metylacji DNA)



Lcy kontroluje symetrię góra-dół kwiatu:
u mutantu nieaktywny z powodu silnej, dziedzicznej metylacji

HEP

Human
Epigenome
Project

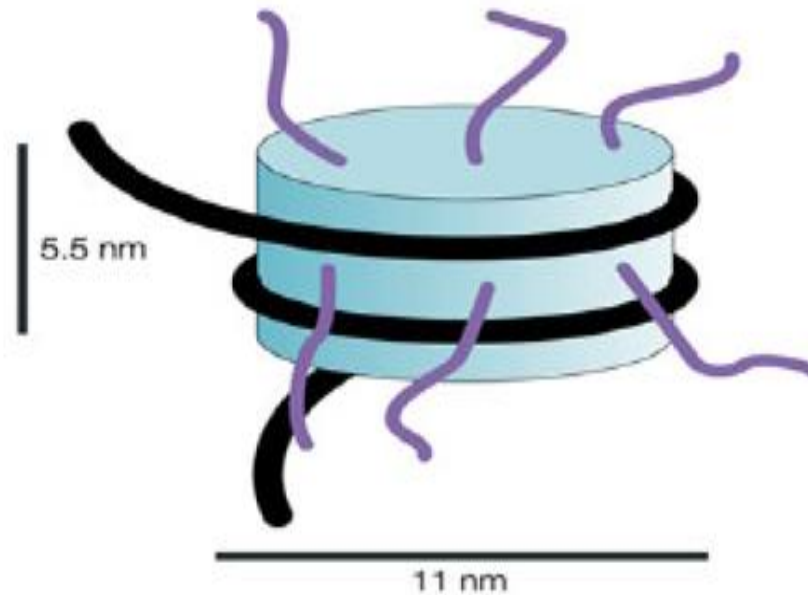


<http://www.epigenome.org/>

Modyfikacje struktury chromatyny wpływające na regulację procesu transkrypcji

2. Kowalencyjne modyfikacje histonów rdzeniowych

Nukleosom

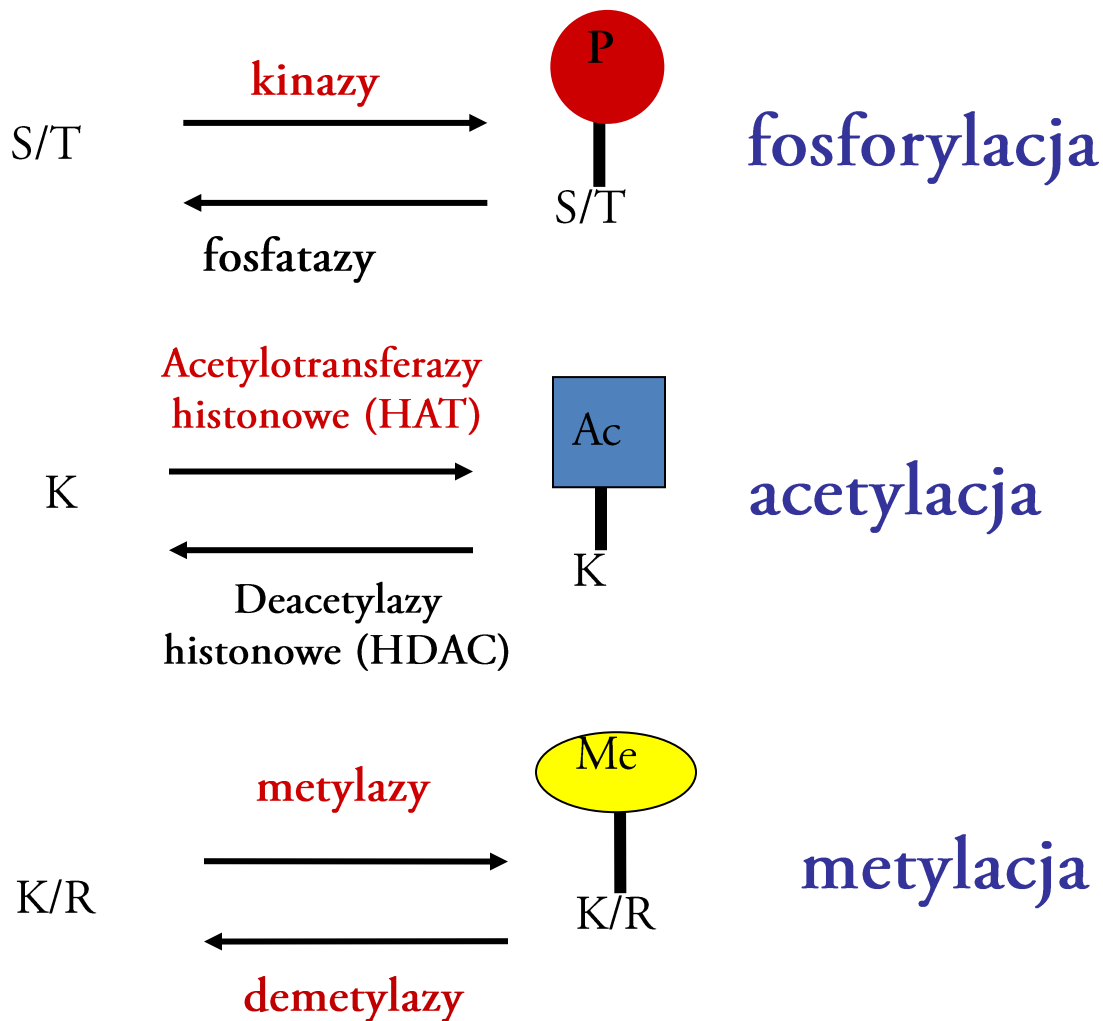


Nature Reviews Molecular Cell Biology 4, 809-814 (October 2003)

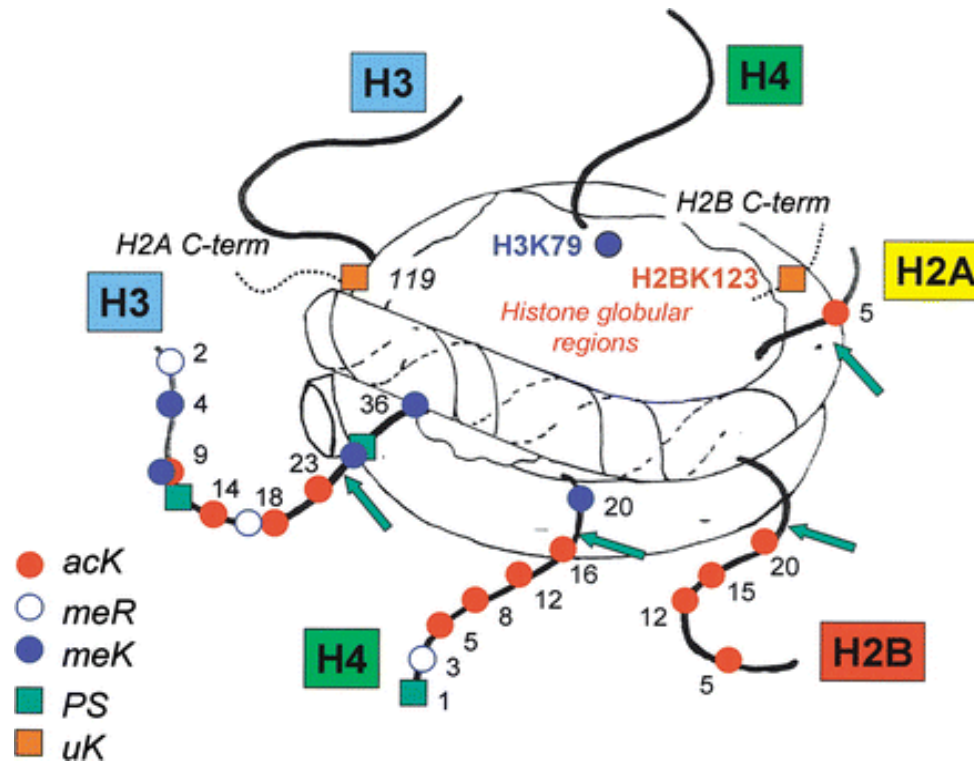
Timeline: Chromatin history: our view from the bridge Donald E. Olins¹ & Ada L. Olins

Zasadowe N- i C-końce histonowe wystają na zewnątrz nukleosomu, ponad DNA owinięty na oktamerze białkowym. Są miejscem wielu potranslacyjnych modyfikacji

Enzymy modyfikujące histony rdzeniowe mogą być aktywatorami bądź represorami transkrypcji



Po-translacyjne modyfikacje histonów



wg. B. Turner, Cell 2002

Ponad 100 miejsc modyfikowanych

Możliwość mono-, di-, trimetylacji podnosi poziom skomplikowania systemu

Nierównomierne rozmieszczenie na obszarze chromatyny

Zależne od stanu komórki

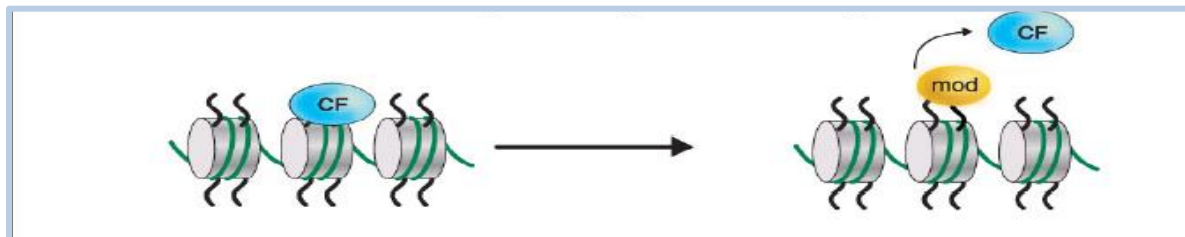
TEORIA KODU HISTONOWEGO

Mechanizm działania modyfikacji potranslacyjnych białek histonowych

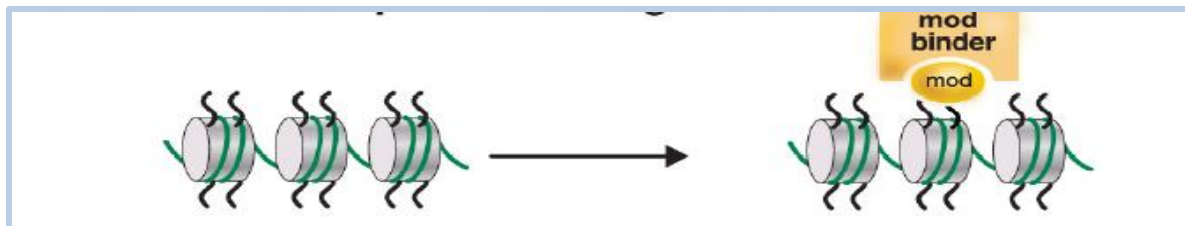
Zmiana struktury chromatyny



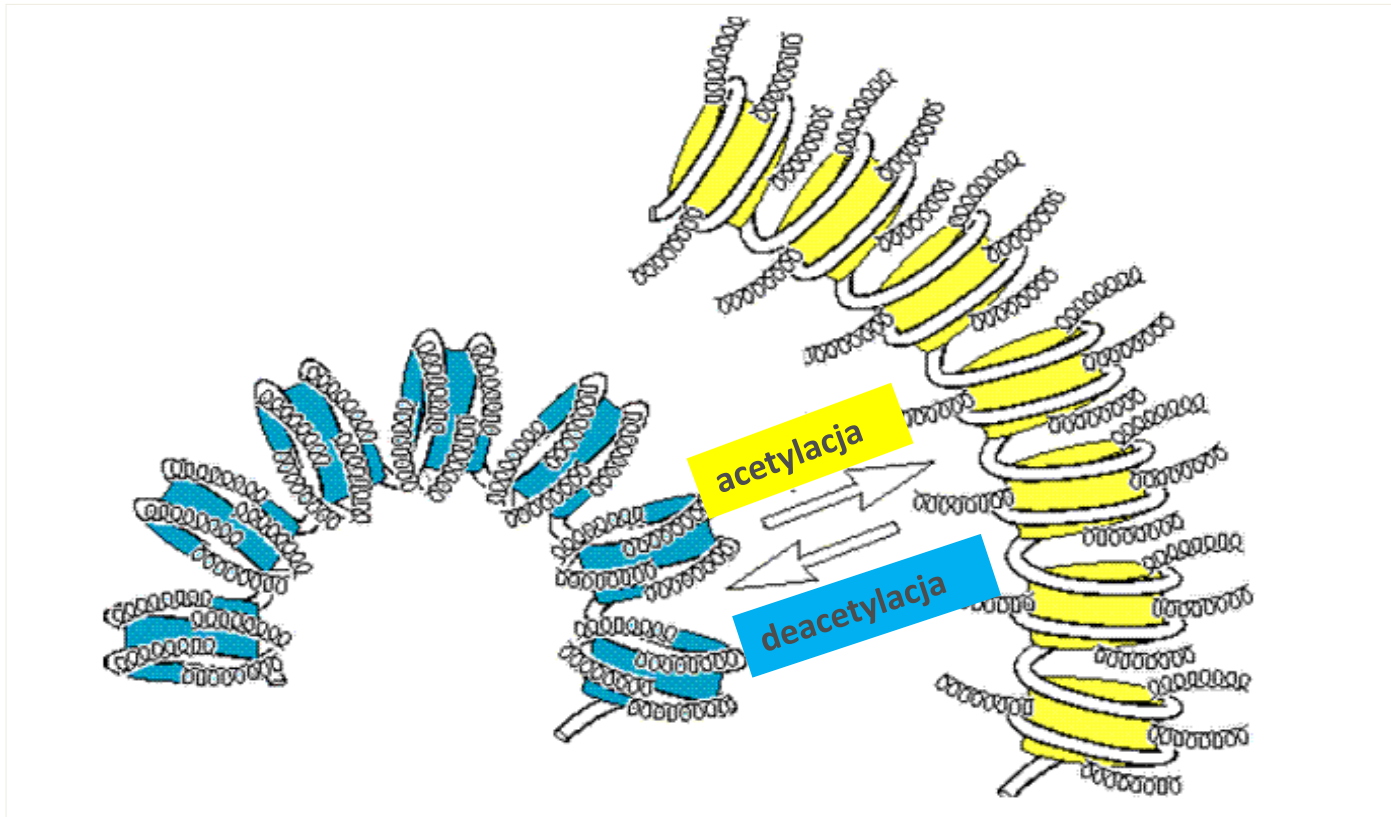
Hamowanie oddziaływania czynników białkowych



Nowe miejsca wiązania dla czynników białkowych

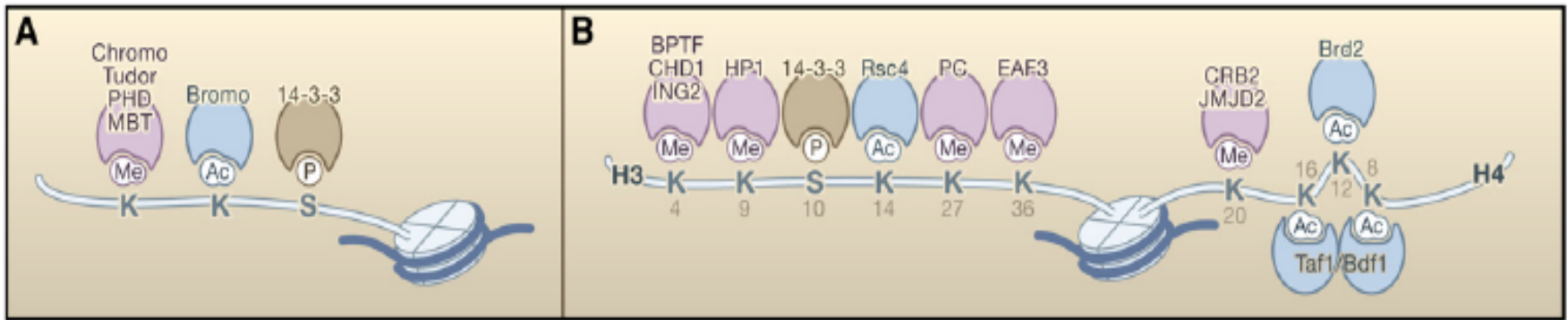


Acetylacja histonów rdzeniowych rozluźnia strukturę chromatyny

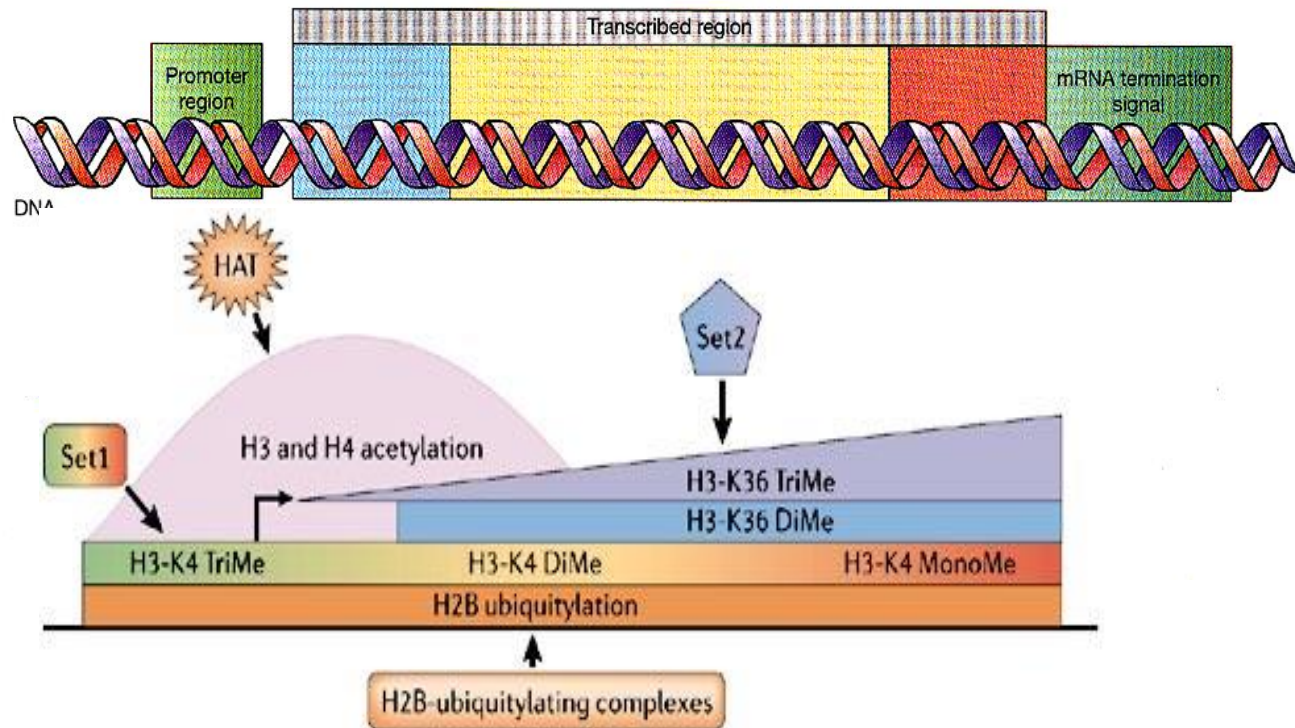


Zmiana dostępności chromatyny dla czynników transkrypcyjnych i polimeraz

Modyfikowane histony rekrutują specyficzne białka rozpoznające określone modyfikacje



Typowy wzór modyfikacji histonowych na aktywnym transkrypcyjnie genie



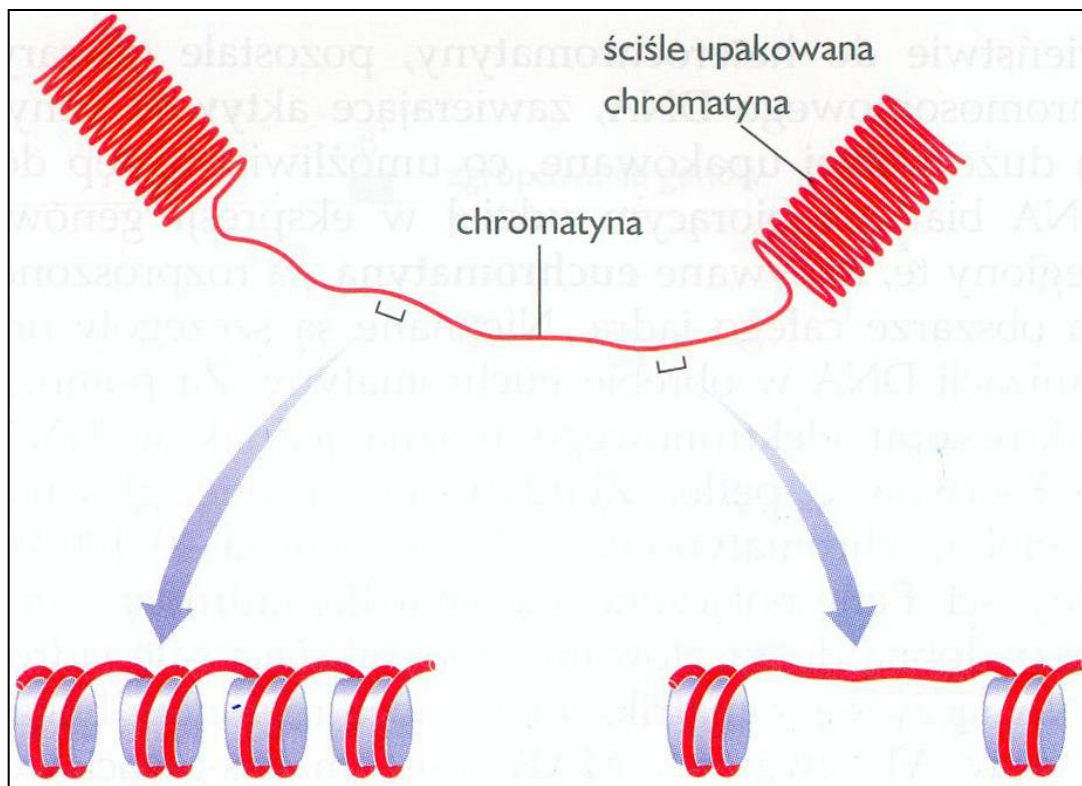
8/nrm1981
Copyright © 2006 Nature Publishing Group
Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Modyfikacje struktury chromatyny wpływające na regulację procesu transkrypcji

3. Remodeling (przebudowa) struktury chromatyny

Regulacja struktury nukleosomowej chromatyny

przesuwanie nukleosomów - zwalnianie dostępu do miejsc wiązania czynników transkrypcyjnych

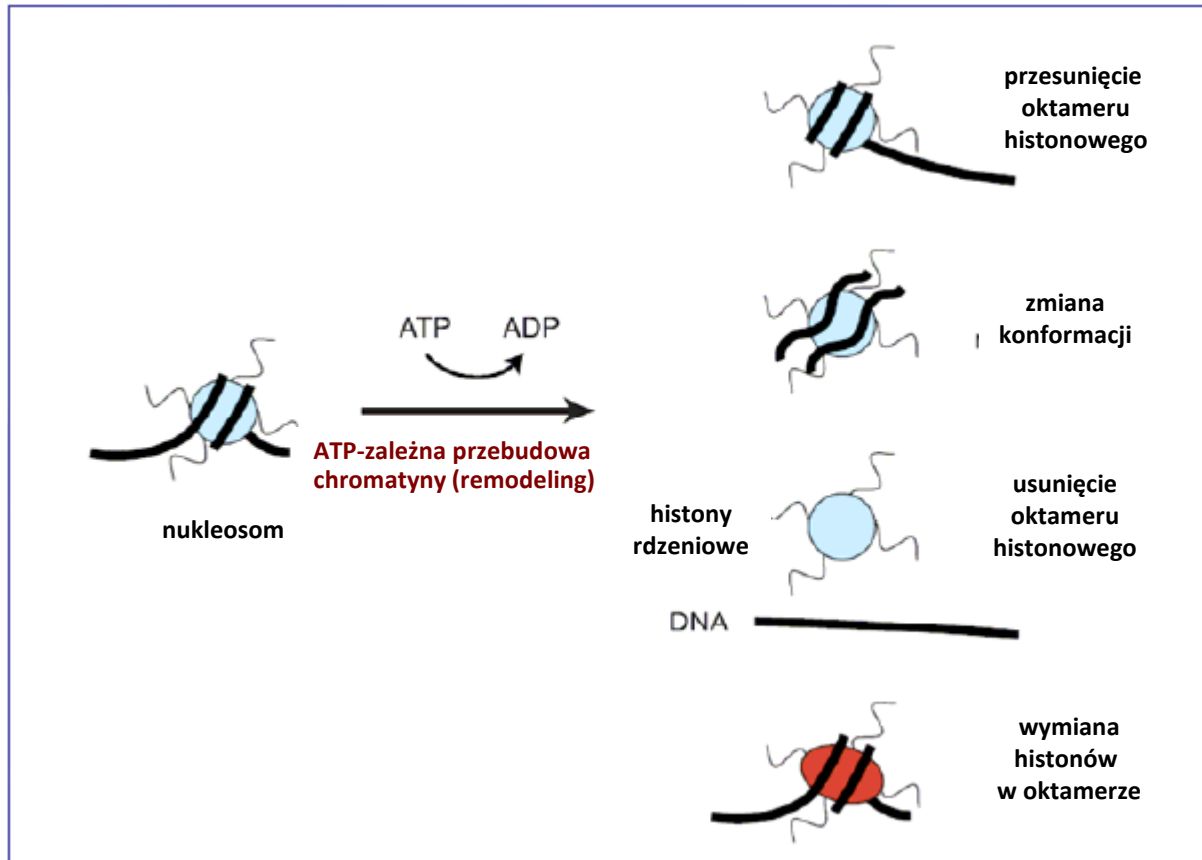


Kompleksy remodelujące chromatynę

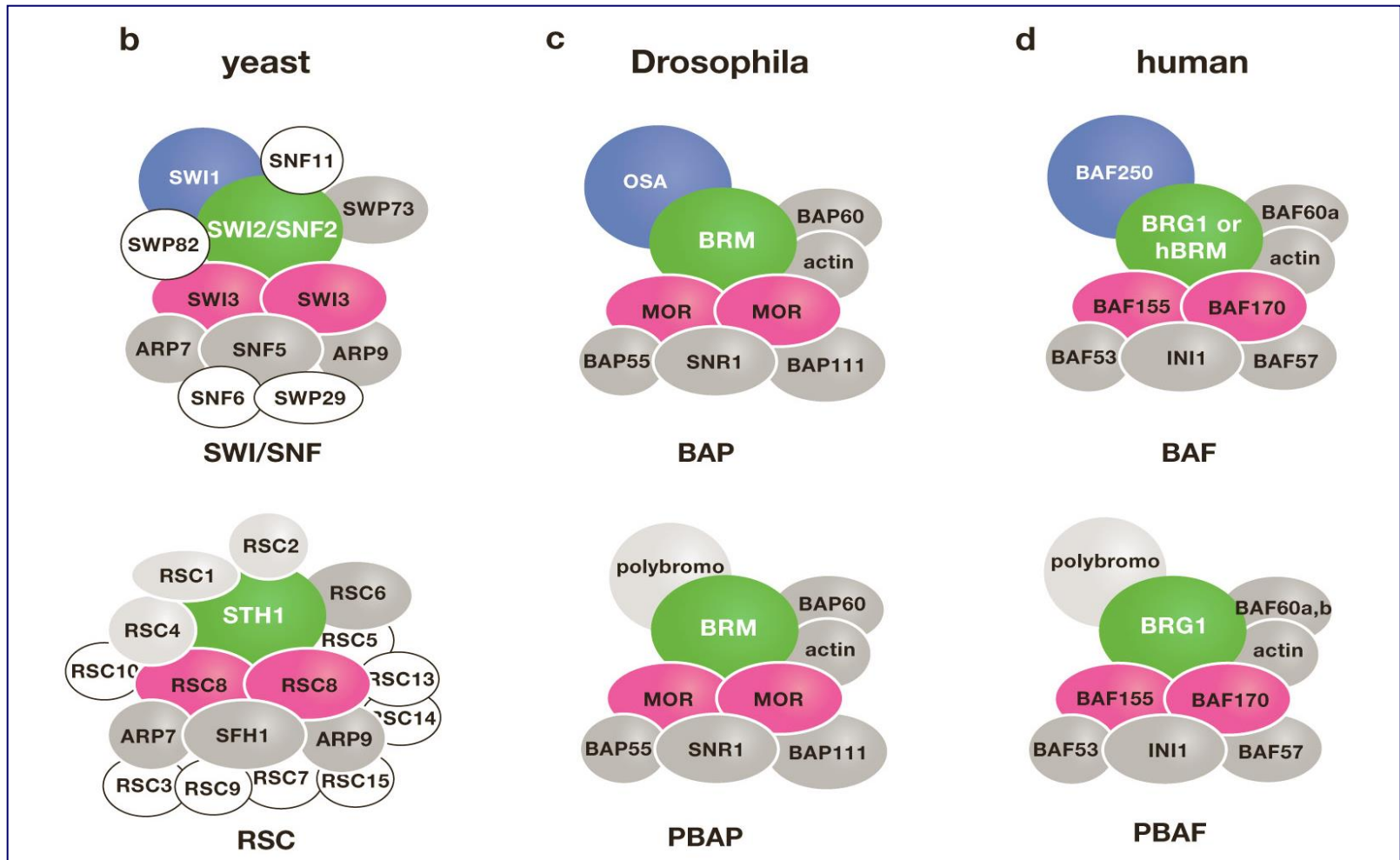
- są zbudowane zazwyczaj z kilkunastu podjednostek
- aktywność zależna od ATP
- w wyniku ich działania zmienia się sposób oddziaływania pomiędzy histonami, a DNA

Kompleksy remodelujące zaangażowane są zarówno w aktywację jak i represję transkrypcji (**koaktywatory i korepresory transkrypcji**)

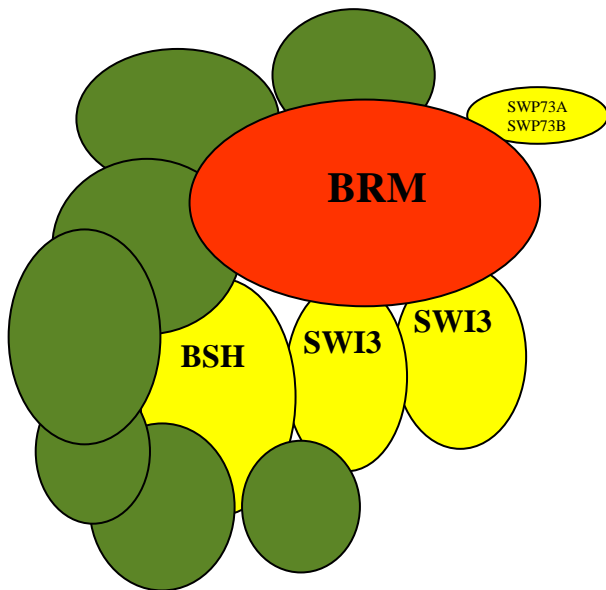
Przebudowa (remodeling) chromatyny



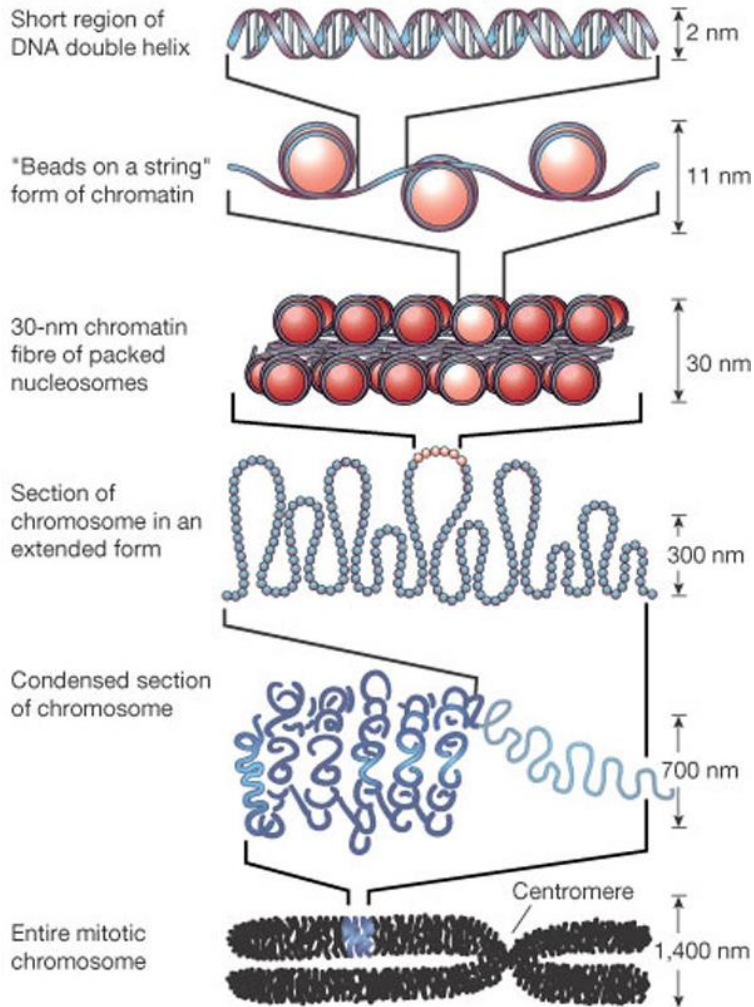
SWI/SNF – kompleks remodelujący chromatynę



Konserwowane funkcje biologiczne kompleksów SWI/SNF:



- ✓ Regulacja inicjacji oraz elongacji transkrypcji
- ✓ Udział w rekombinacji homologicznej, naprawie DNA
- ✓ Regulacja cyklu komórkowego
- ✓ Regulacja procesów rozwojowych – także u roślin
- ✓ Udział w szlakach sygnalizacyjnych uruchamianych przez hormony – także u roślin



Podstawowe modyfikacje zmieniające strukturę chromatyny

- Metylacja DNA (zamykanie obszarów chromatyny)
- Kowalencyjne modyfikacje histonów, np. acetylacja lub metylacja (kod histonowy)
- ATP-zależna przebudowa (remodeling) chromatyny- zmiana konformacji nukleosomów lub ich pozycji względem DNA

Współzależność różnych typów modyfikacji chromatyny

Metylacja DNA i potranslacyjne modyfikacje histonów rdzeniowych współzależą od siebie i mogą się wzajemnie indukować.

Kompleksy remodelujące chromatynę zazwyczaj zawierają białka rozpoznające modyfikacje histonów oraz metylację DNA.

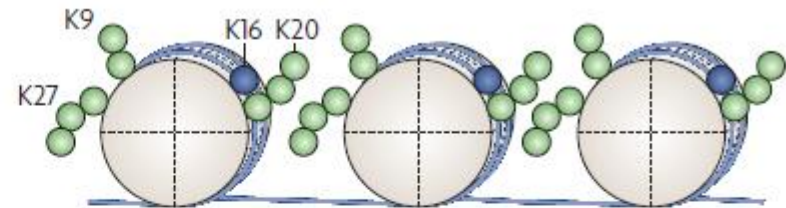
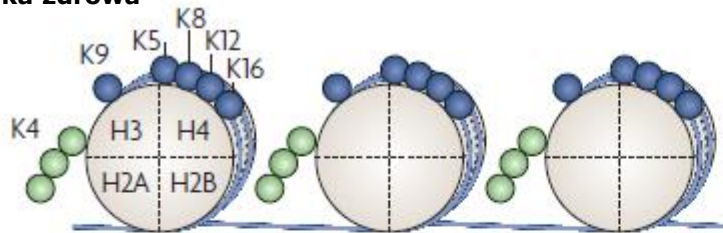
Nieprawidłowe funkcjonowanie systemu modyfikacji chromatyny jest charakterystyczne dla większości nowotworów

Zmiany wzoru metylacji DNA w procesie nowotworzenia

Charakterystyczną cechą komórek nowotworowych jest obniżony poziom metylacji DNA w skali całego genomu (hipometylacja) i jednoczesna hipermetylacja niektórych obszarów DNA

Wzór modyfikacji histonów rdzeniowych w komórkach niezmiennych i nowotworowych

Komórka zdrowa



Obszary bogate w geny
Geny supresorowe

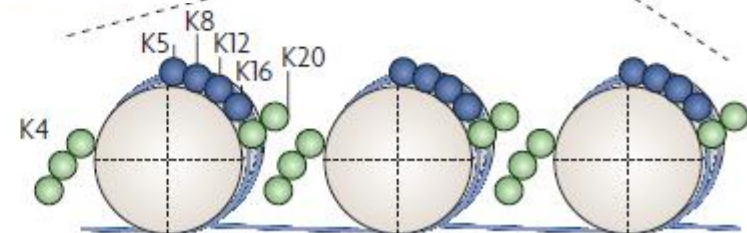
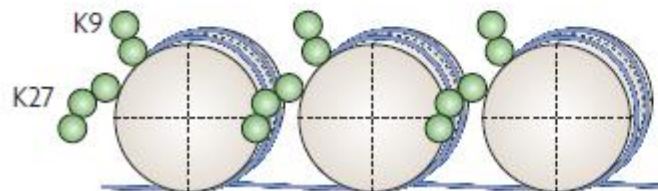
Centromer

Heterochromatyna

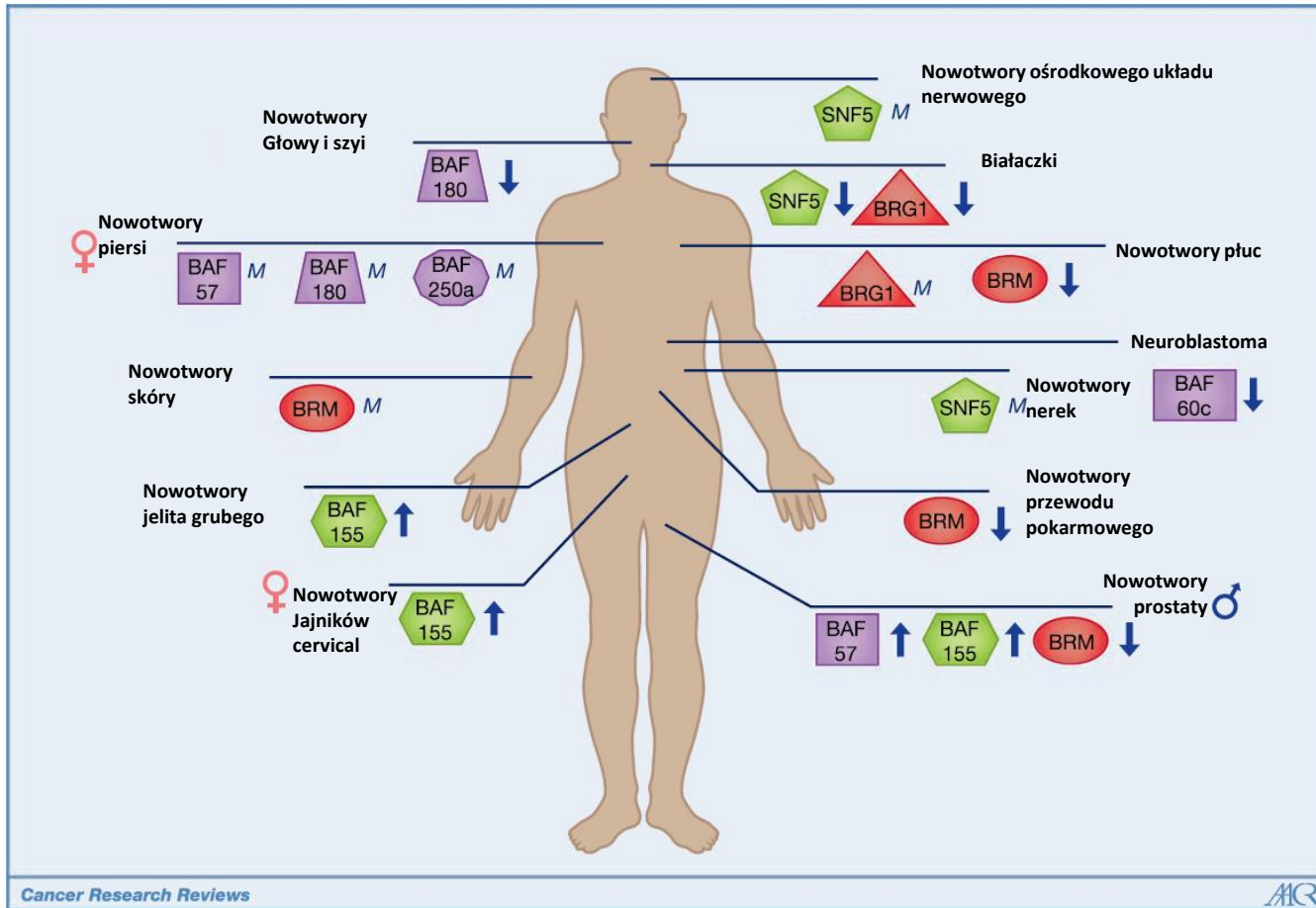


Obszary subtelomerowe
Powtórzenia satelitarne

Komórka nowotworowa



Zmiany w kompleksie SWI/SNF zidentyfikowane w różnych typach nowotworów człowieka



Najważniejsze pytania epigenetyki

