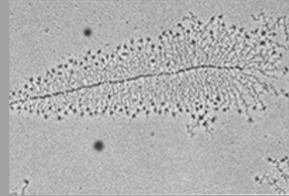
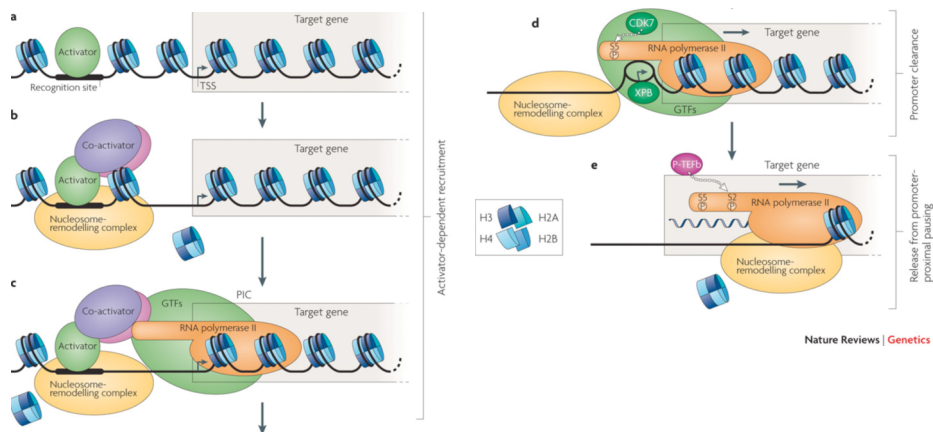
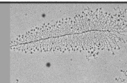


Az eukarióta transzkripció szabályozása



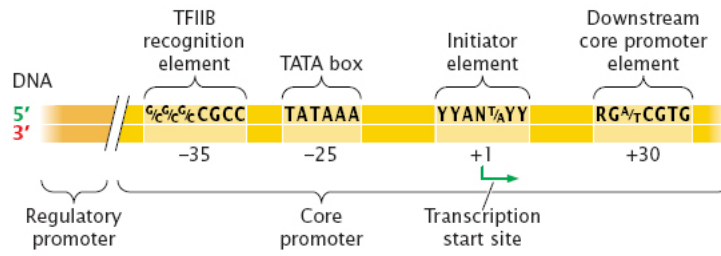
Varga Máté
m.varga@ucl.ac.uk

Az eukarióta transzkripció

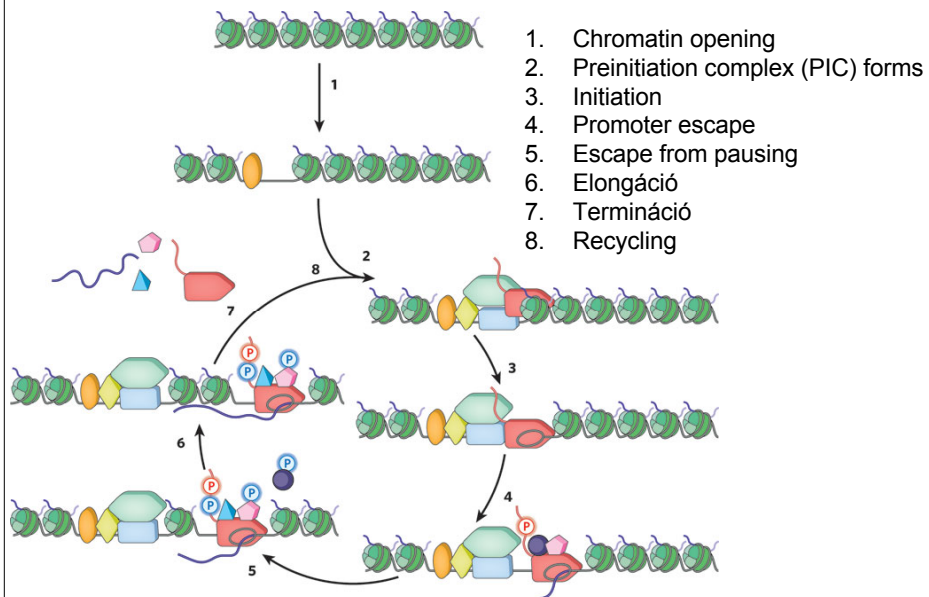


(Weake and Workman (2010) *Nat Rev Gen*)

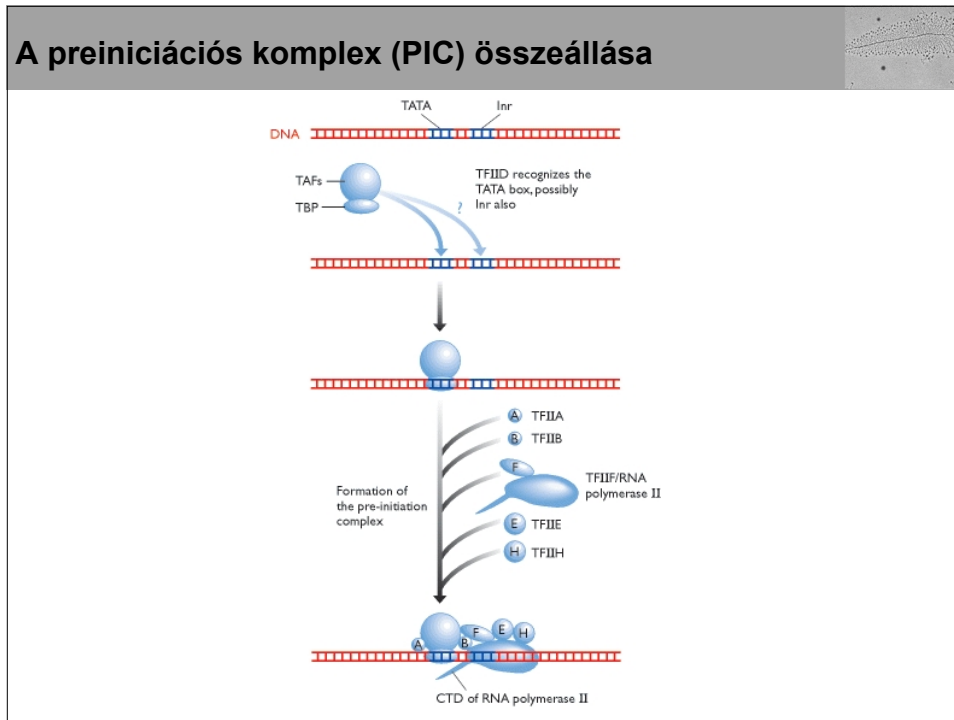
Az alap-promóter (core promoter)



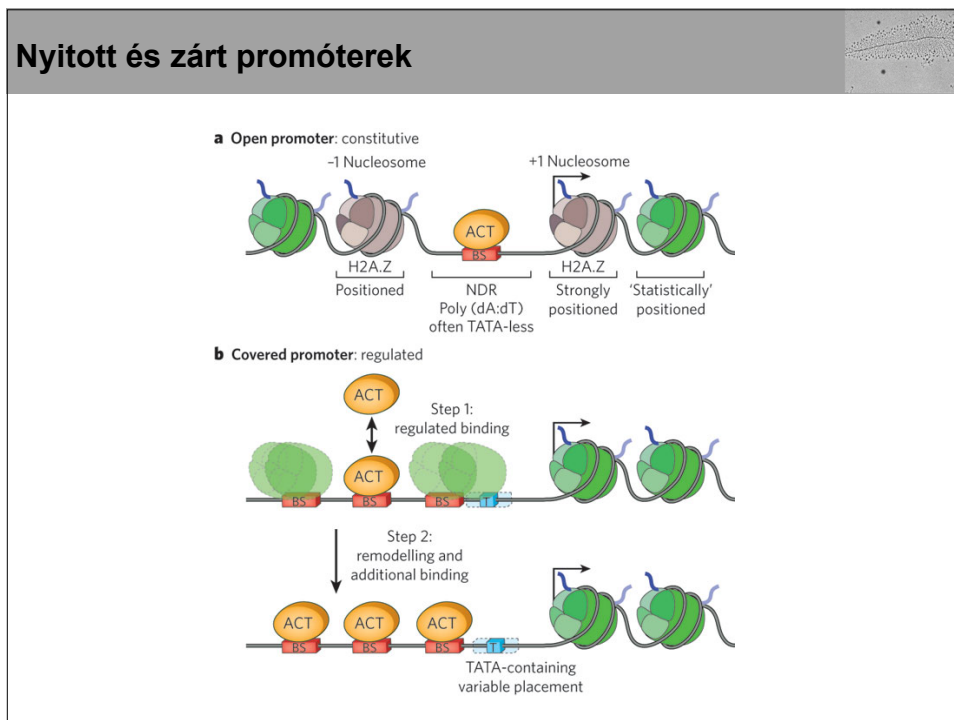
A transzkripció ciklus



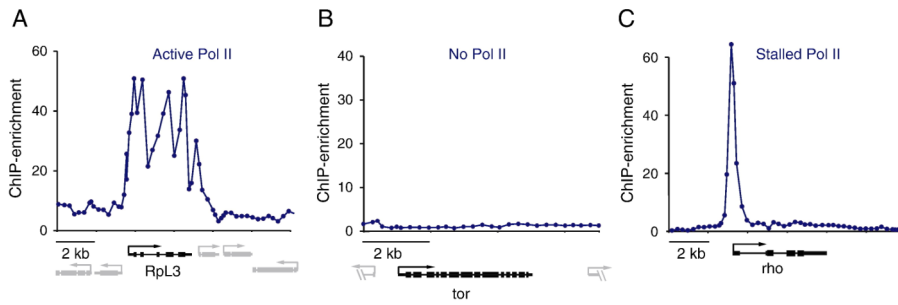
A preiniciációs komplex (PIC) összeállása



Nyitott és zárt promóterek

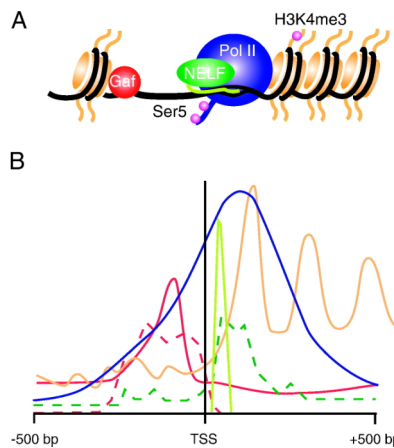


Transzkripció szabályozás: különböző RNS polimeráz II kötődési profiok



rpl13 = housekeeping gén (folyamatosan átíródik)
tor = nem szükséges a fejlődéshez
rho = fejlődést szabályozó gén

A transzkripció szabályozása: a fejlődést szabályozó gének nyitott promótere



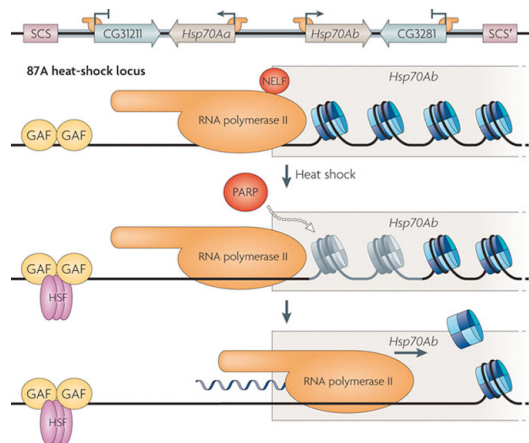
- a fejlődést szabályozó gének szigorú kontroll alatt vannak

- a kromatin nyitott ezeken a genom ezen pozíciójában, és a PolII is oda tud kötődni

- PolII megakad a promoternél, de könnyen "továbbengedhető" (a NELF elvonásával), hogy elinduljon a transzkripció

NELF = Negative ELongation Factor

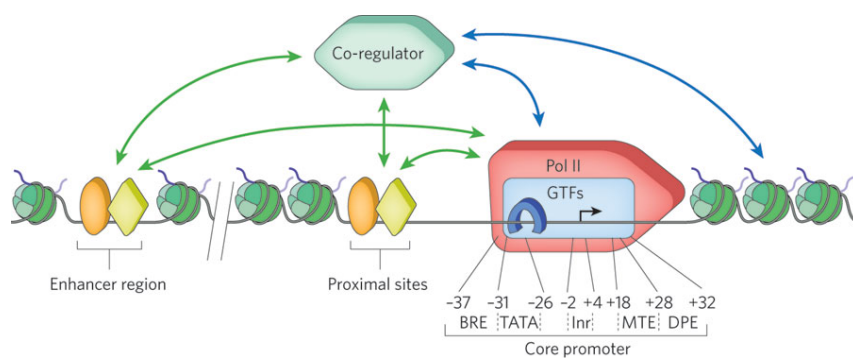
A transzkripció szabályozása: a hősokk fehérjék nyitott promótere



NELF = Negative ELongation Factor

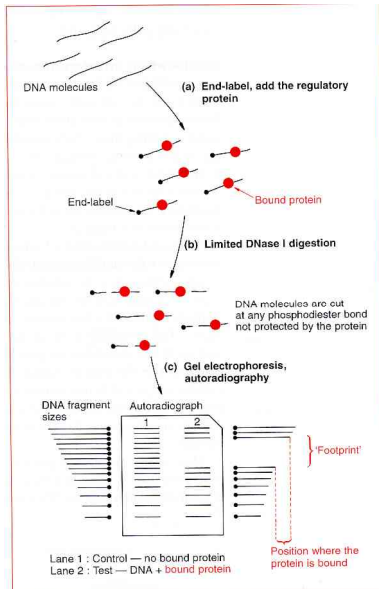
(Weake and Workman (2010) *Nat Rev Gen*)

Transzkripciót szabályozó kölcsönhatások



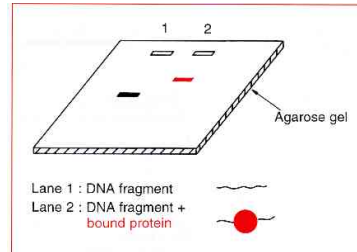
Transzkripciós faktorok kötődésének vizsgálata

1. - DNáz "lábnyom" (footprinting)



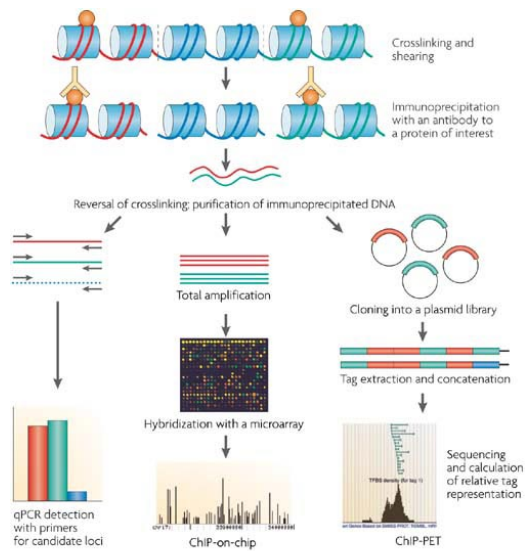
<http://bioweb.wku.edu/courses/biol350/Transcriptome17/Review.html>

2. - EMSA/Band shift/Gel shift assay



3. - Chromatin immunoprecitáció (ChIP)

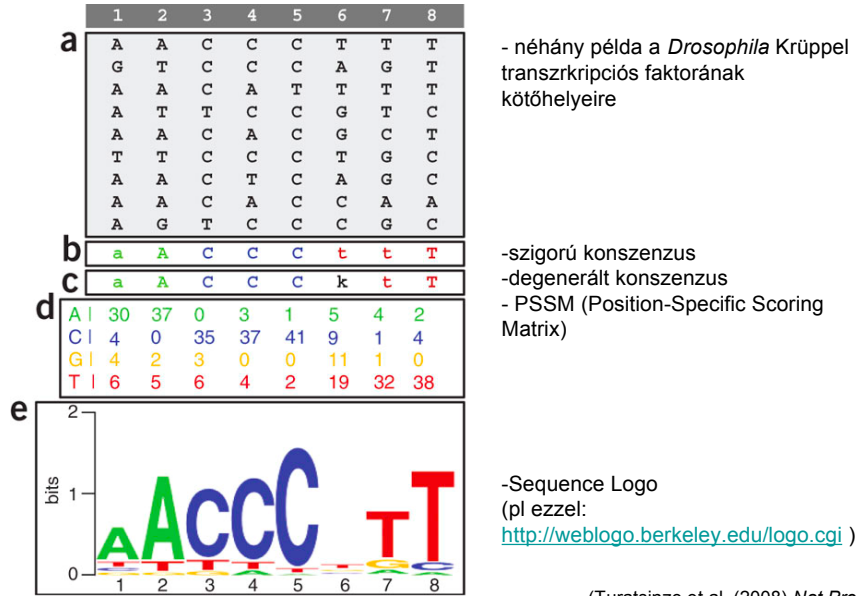
Chromatin-immunoprecitáció (ChIP) variációk



Nature Reviews | Genetics

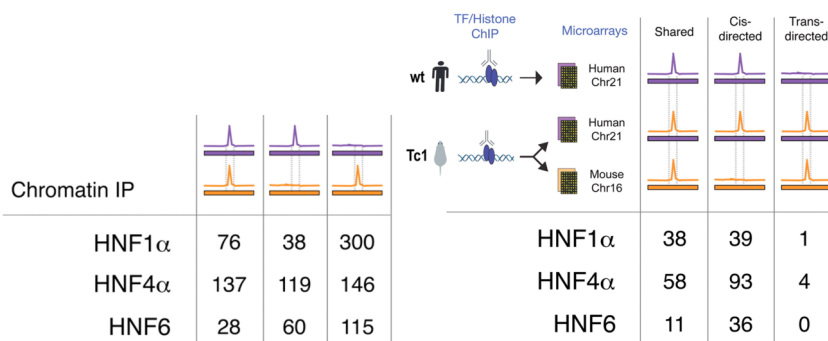
(Spivakov and Fisher (2007) Nature)

Konszenzus TF kötőhelyek



A TF-kötő helyek turnovere igen magas

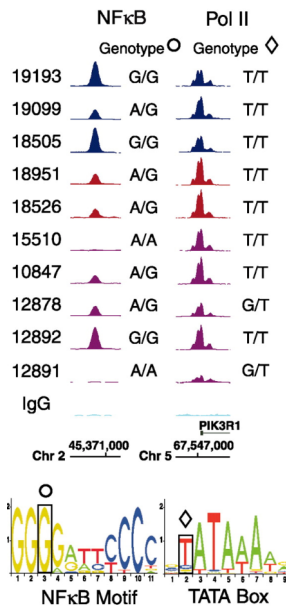
- szerkezeti és működési szempontból erősen konzervált májsejtek nagy különbségeket mutatnak az orthológ szekvenciák TF kötőhelyeiben



- a különbségek többsége genetikai eredetű, hiszen egy emberi kromoszóma darab az egérben nagyon hasonló TF-kötési profilt mutat, mint emberben

(Wilson et al. (2008) *Science*)

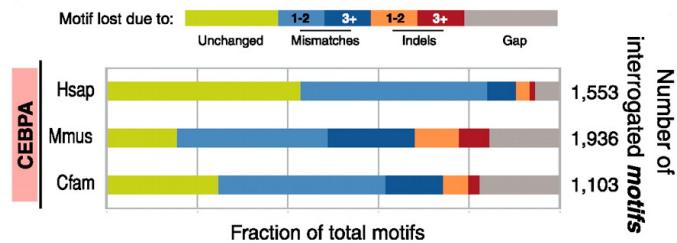
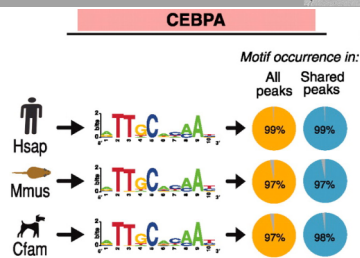
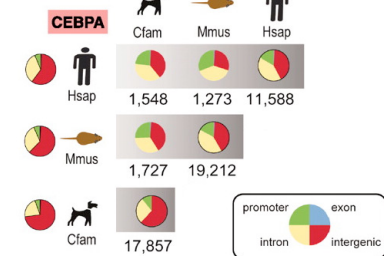
Konszenzus TF-kötő helyek kisebb változásainak komoly transzkripció hatása lehet



(Kasowski et al. (2010) Science)

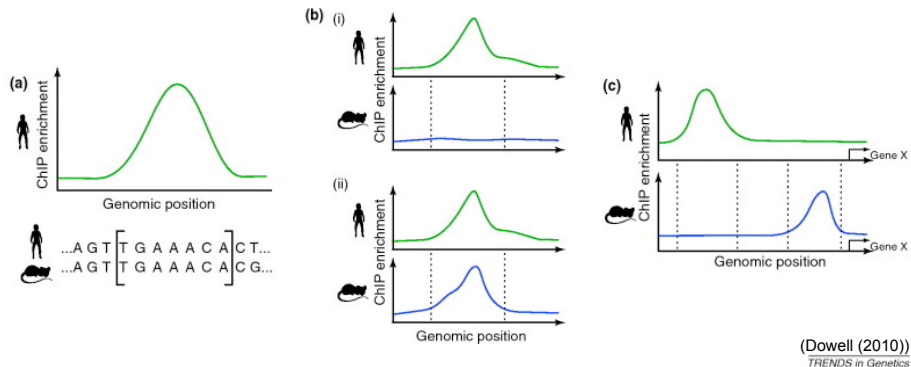
A konzervált köthely még nem jelent kötődést is!

CEBPA: máj specifikus transzkripció faktor



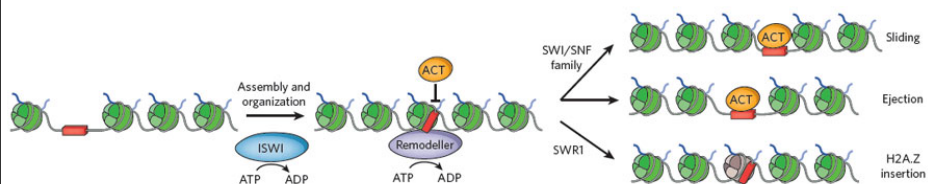
(Schmidt et al. (2010) Science)

TF-kötőhely összefoglaló



1. - bizonyított kötőhely konzervációja jó kiindulási alap a DNS-fehérje kapcsolat konzerváltágának feltételezésére
2. - de NEM bizonyíték (egy-egy szekvencia környezete megváltozhatott úgy, hogy a TF fizikailag nem képes a kötőhelyhez férni)
3. - egy-egy TF adott gén szabályozásában megőrzött szerepe még nem jelenti automatikusan a TF-kötőhely megőrződését: a valóságban a TF kötőhelyek turnoverje igen magas (májspecifikus enzimek esetében a kötőhelyek 7-48%-a *konzervált* csak!)

A kromatin remodellezése elengedhetetlen a transzkripció aktivációhoz

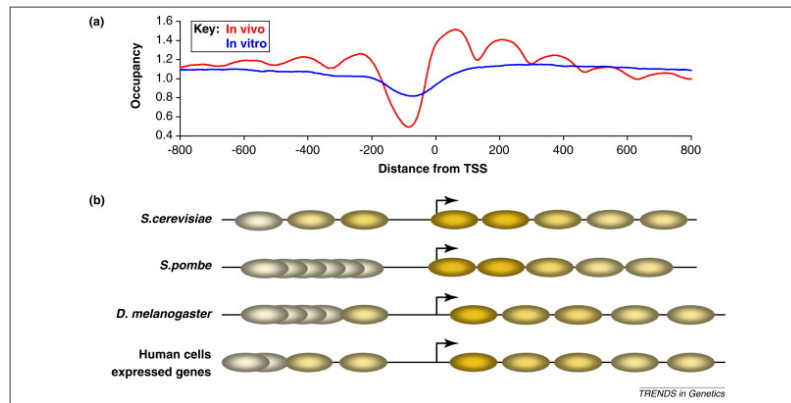


ISWI - help to conduct chromatin assembly and organization and provide consistent spacing of nucleosomes

SWI/SNF - provide access to binding sites in nucleosomal DNA, mainly through nucleosome movement or ejection

SWR1 - reconstruct nucleosomes by inserting the histone variant H2A.Z into nucleosomes, specializing their composition and leading to an unstable nucleosome

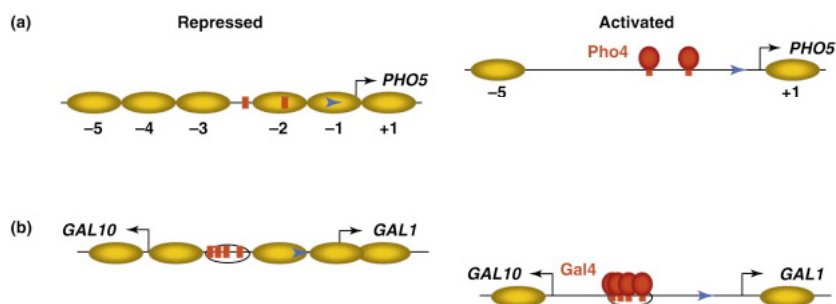
Az transzkripció start hely (TSS) közelében sztereotip a nukleoszómák pozíciója



- a TSS előtt (bár gyakran nem közvetlenül) egy nukleoszóma-mentes régió (NDR) található
- a TSS-től távolodva egyre kevésbé sztereotip a nukleoszómák pozíciója

(Bai and Morozov (2010) *TIG*)

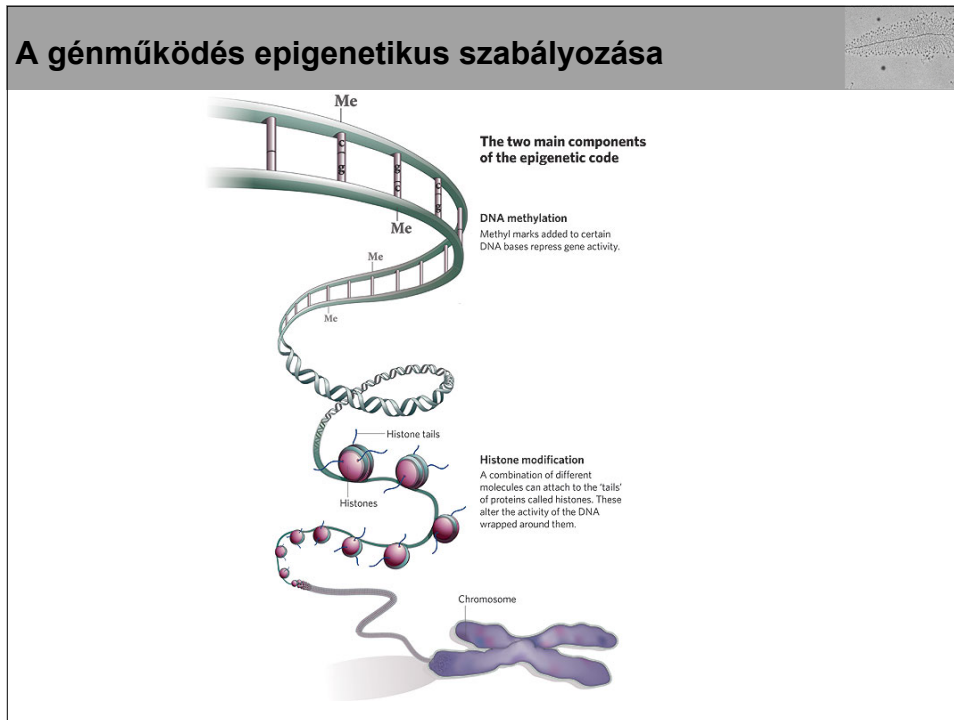
A transzkripció nukleoszómális átrendeződéssel jár



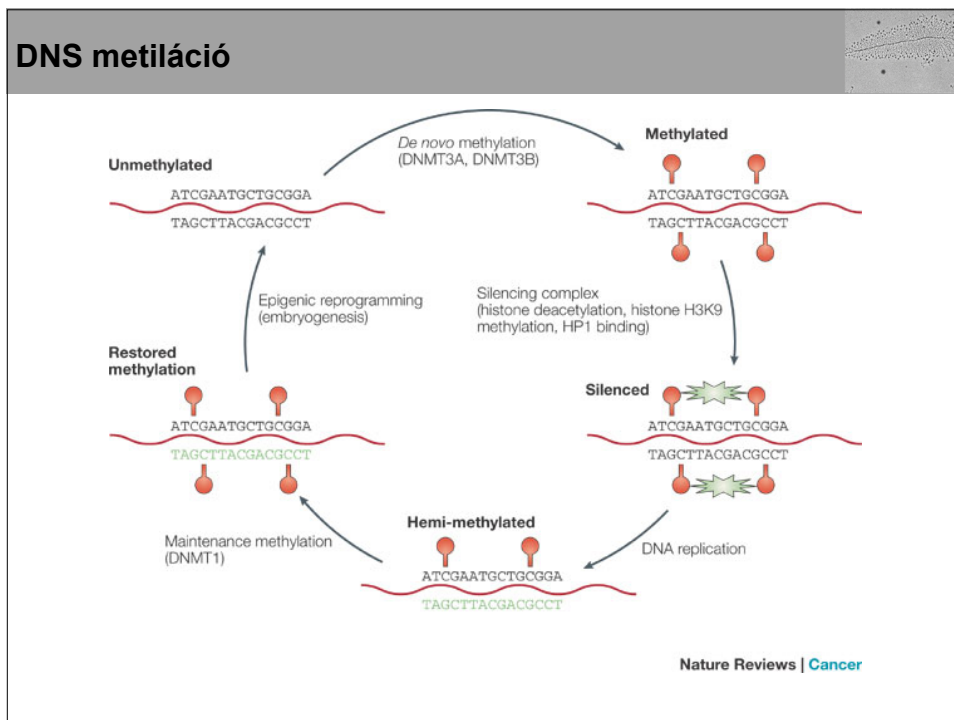
(Bai and Morozov (2010) *TIG*)

- ha a megfelelő transzkripció faktorok az NDR-ben levő kötőhelyeikhez kötnek, az a nukleoszómák átrendeződésével jár; hozzáférhetővé válik a TSS
- számos génnél hisztonok hiányában nem tudnak újraalakulni a nukleoszómák, és a transzkripció akkor is megmarad, amikor a TF-kötődés megszűnik
- más géneknél azonban a nukleoszómális átrendeződés szükséges de nem elégséges feltétele az átíródásnak

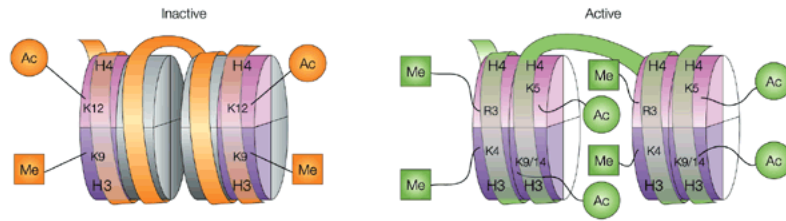
A génműködés epigenetikus szabályozása



DNS metiláció



Epigenetikus hiszton módosítások



Nature Reviews | Immunology

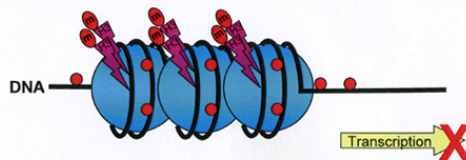
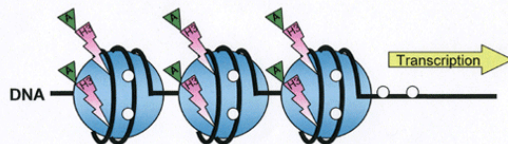
Inaktív állapot: acetiláció (Ac) - lysine (K) 12 (hiszton 4 - H4) és metiláció (Me) K9, K27 (H3)

Aktív állapot: acetiláció - K9, K14 (H3), K5 (H4), metiláció - K4 (H3), Arginin (R) 3 (H4)

Epigenetikus hiszton módosítások

Medscape® www.medscape.com

A. Transcriptionally active chromatin



HATs = histone acetyl transferases

DNMTs = DNA methyltransferases

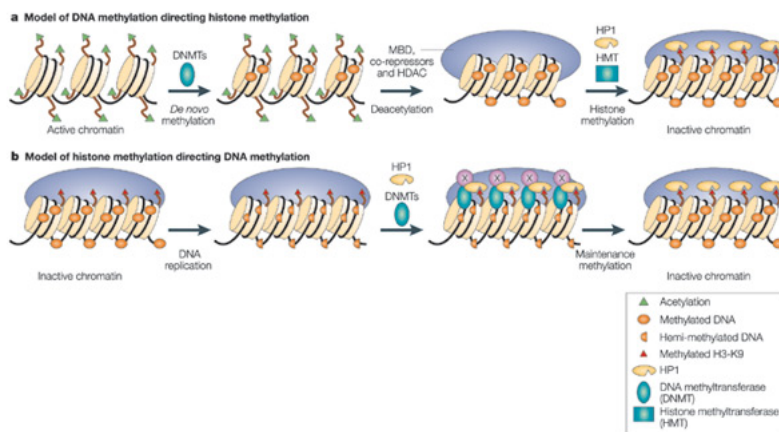
HDACs = histone deacetylases

MBPs = methyl-CpG binding proteins

B. Transcriptionally inactive chromatin

Source: Neurosurg Focus © 2005 American Association of Neurological Surgeons

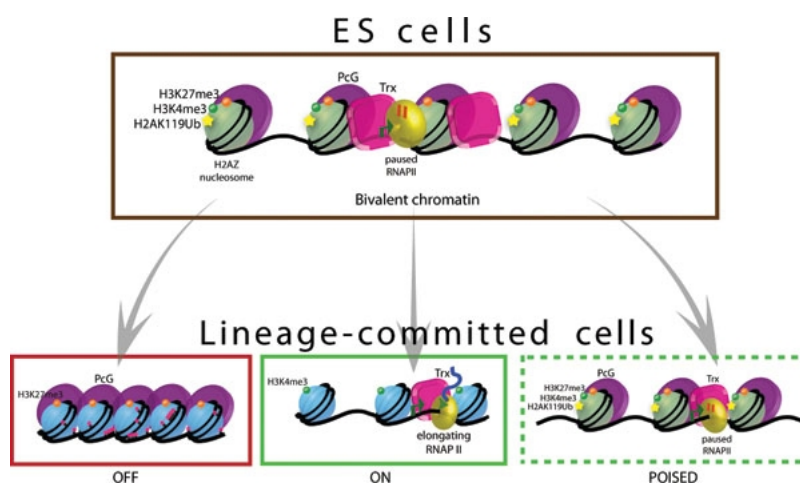
A represszív epigenetikus módosítások egymás katalizátoraiként működhetnek



Nature Reviews | Genetics

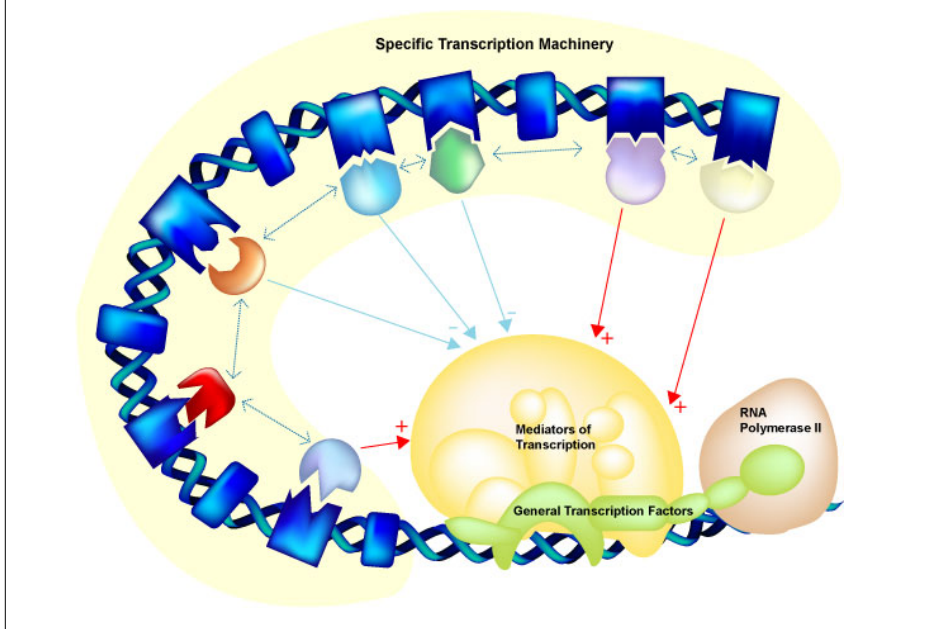
(Li (2002) *Nat Rev Gen*)

Bivalens epigenetikus módosítások

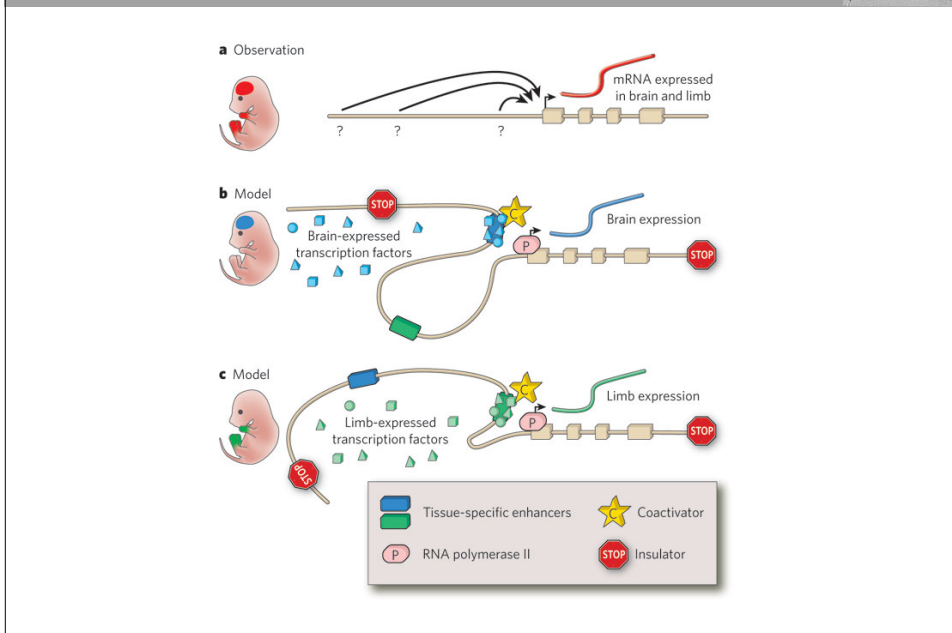


-főleg fejlődési géneknél jelentkeznek
 -a bivalens státusz a fejlődés előrehaladtával feloldódik

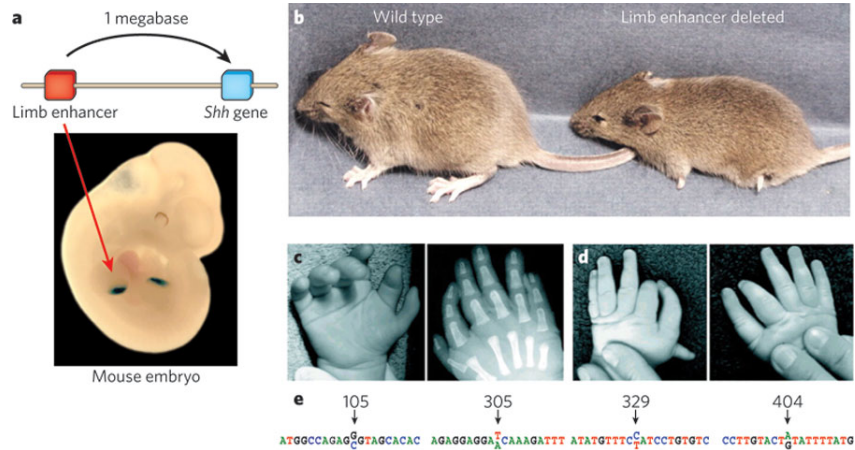
Transzkripció szabályozása: enhancerek



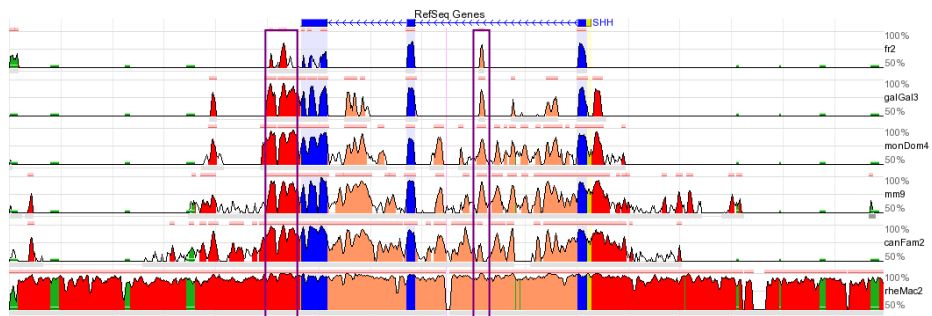
Hosszú távon ható enhancerek



Hosszú távon ható enhancerek: a *Shh* gén

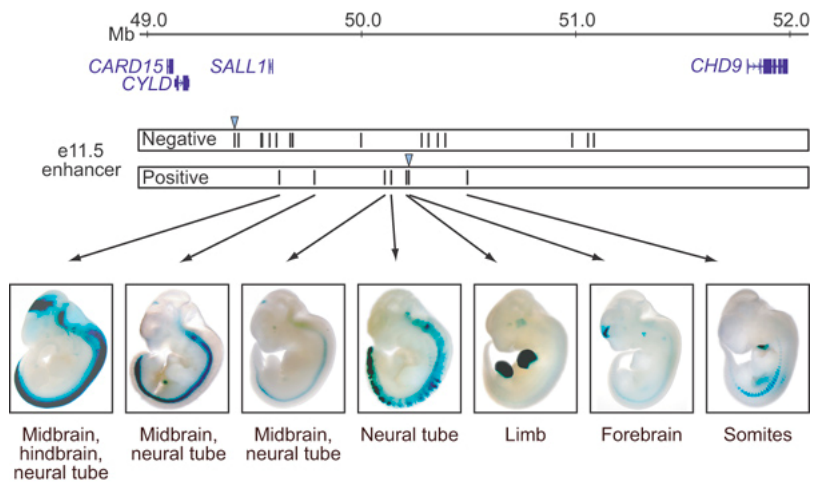


Conserved Non-coding Elements (CNE)



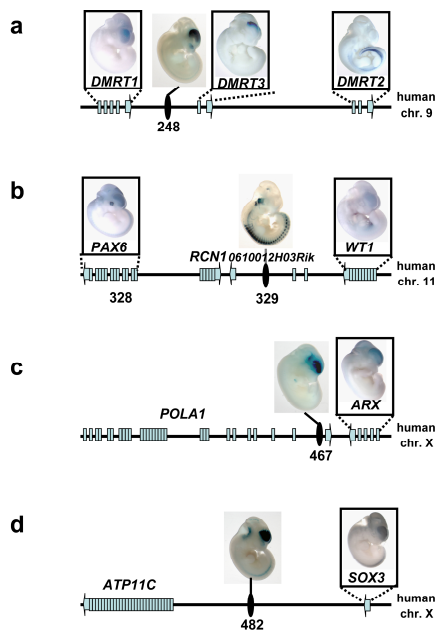
CNE: akár több száz bp hosszúságú DNS darab, amely akár a fehérje kódoló részeknél is nagyobb konzerváltságot mutat

Transzgénikus vizsgálatokban a CNEk enhancerként működnek



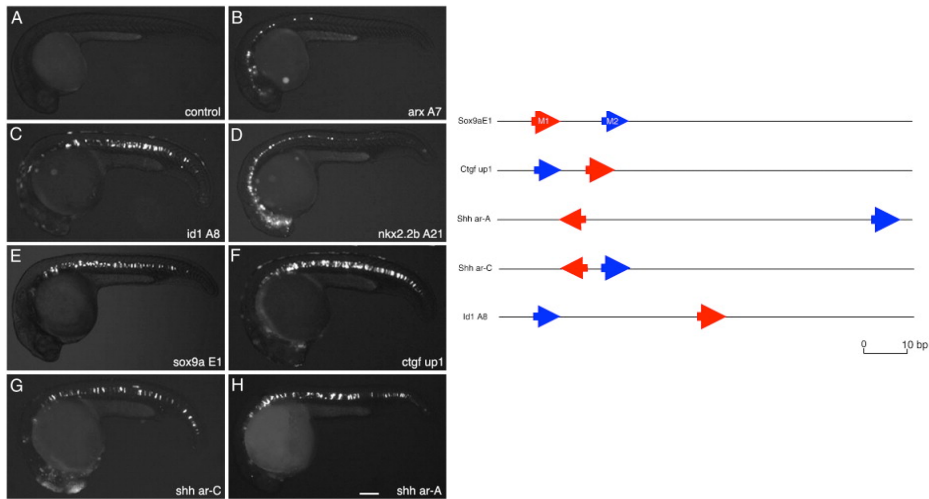
(Pennacchio et al. (2006) *Nature*)

DE: a CNE deléció túlélhető



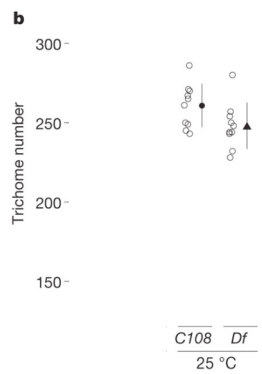
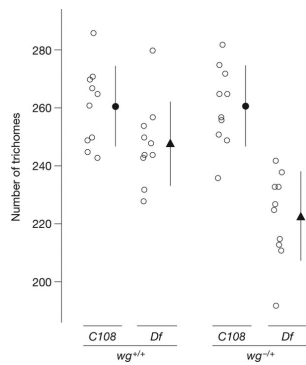
(Ahituv et al. (2007) *PLoS Biol*)

Funkcionálisan homológ CNE-kben a TF-kötőhelyek nem rögzítettek



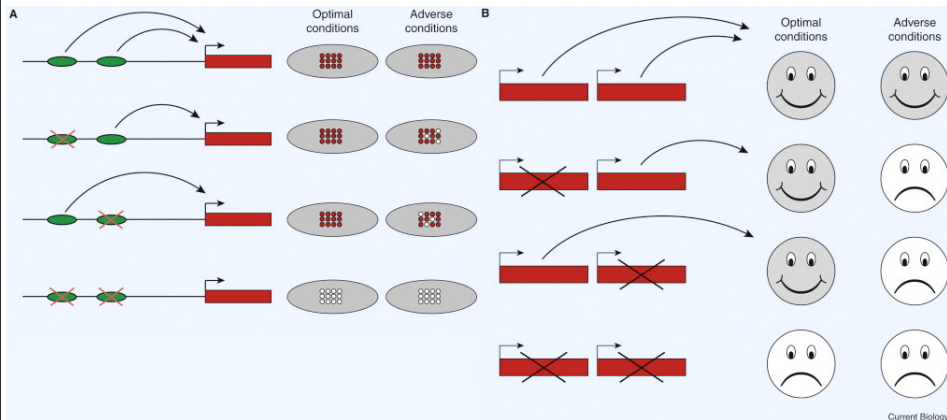
(Rastegar et al. (2008) *Dev Bio*)

Az "árnyék" enhancerek a fejlődési folyamatok robusztusságát biztosítják



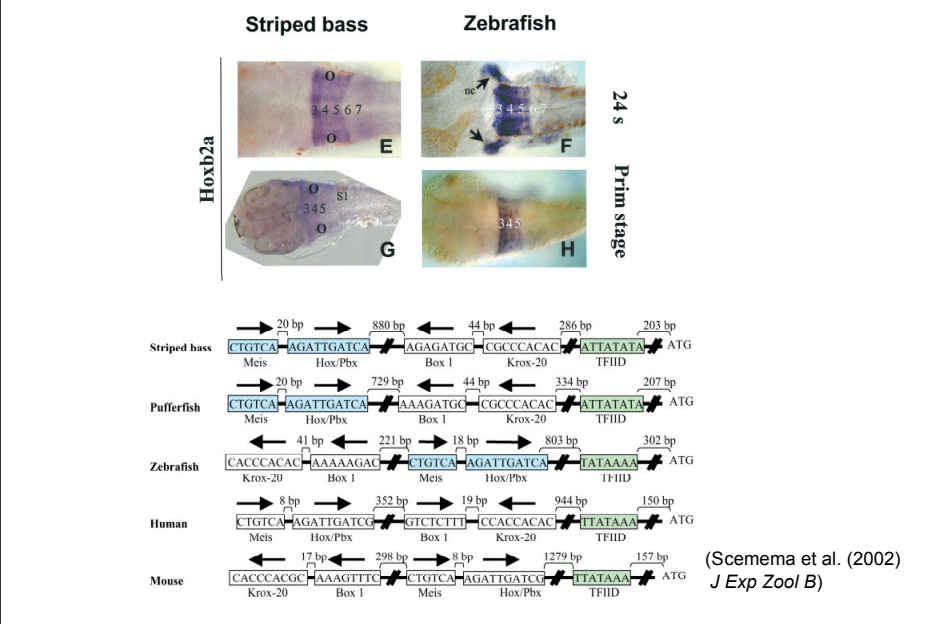
(Frankel et al. (2010) *Nature*)

Az "árnyék" enhancerek működési logikája a paralóg génekére emlékeztet

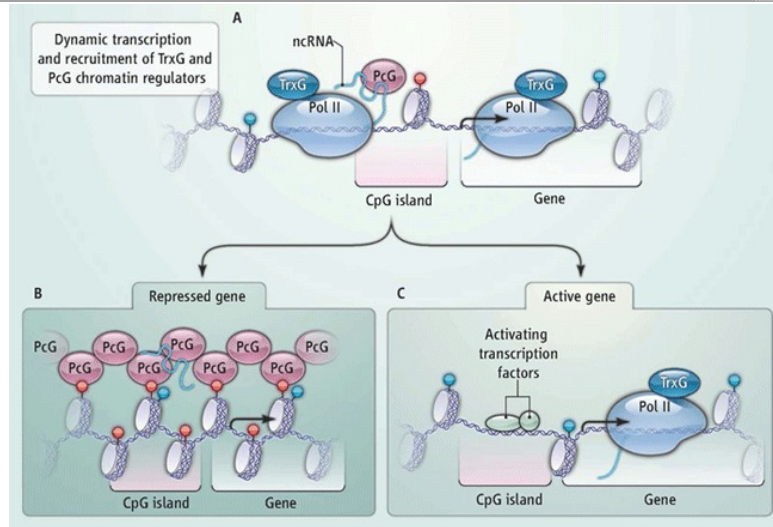


(Holbert (2010) *Curr Bio*)

A kulcsfontosságú TF-kötőhelyek nem kötöttek funkcionálisan homológ enhancerekben



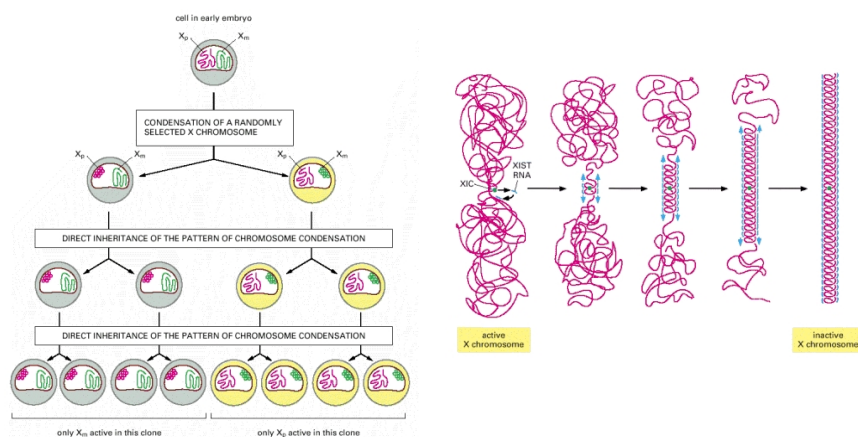
A transzkripció lehet represszív hatású is



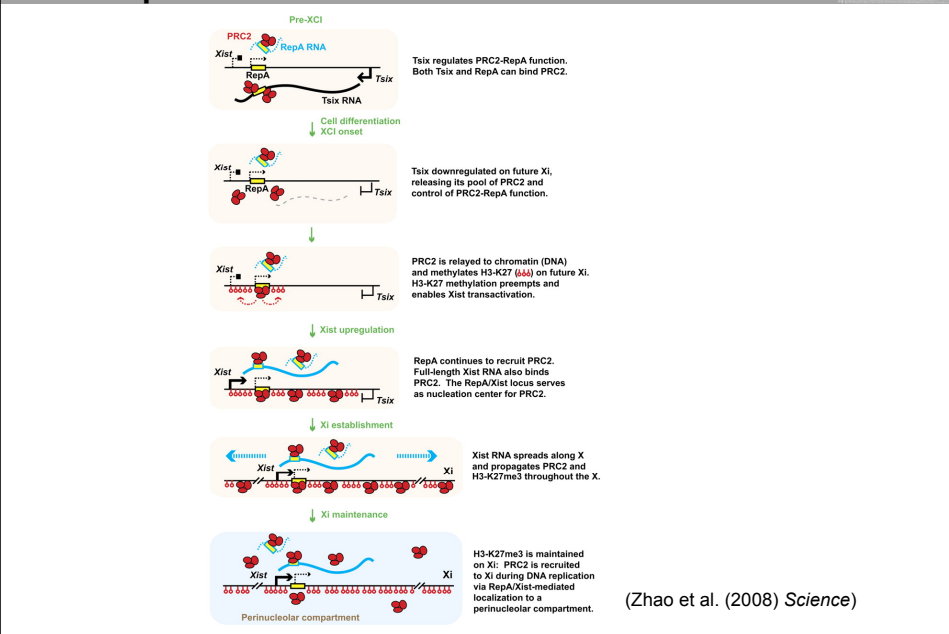
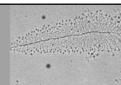
(PcG = Polycomb Group Protein; TrxG = Trithorax Group Protein)

(Guenther and Young (2010) *Science*)

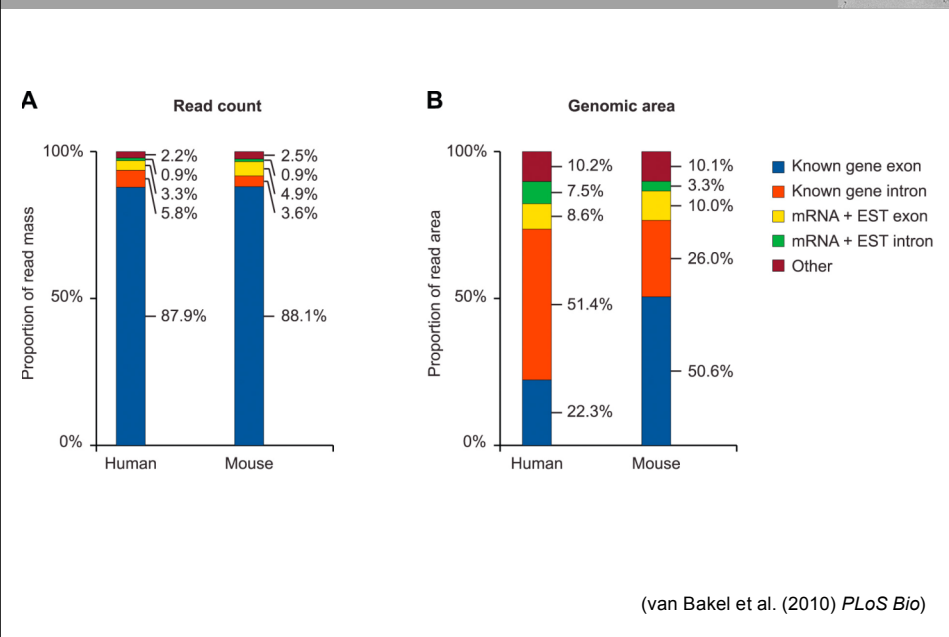
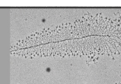
X kromoszóma inaktiváció: a represszív transzkripció klasszikus esete



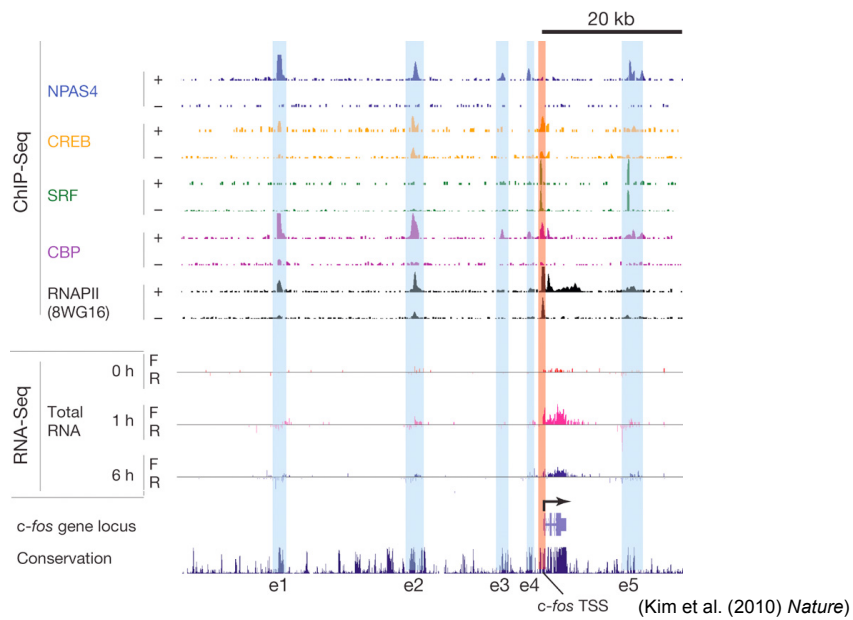
X kromoszóma inaktiváció: a represszív transzkripció klasszikus esete



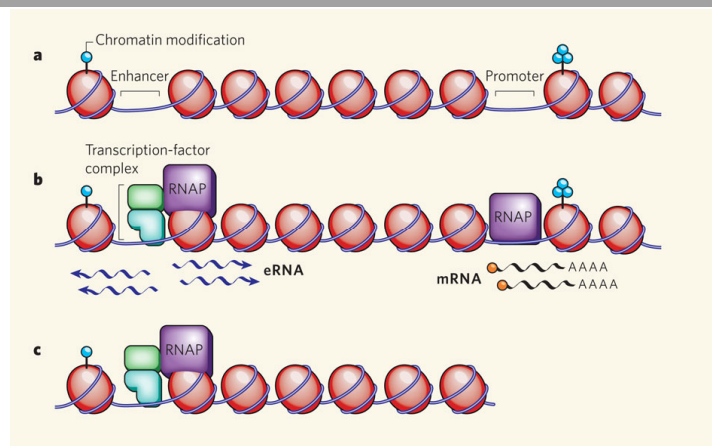
Nem csak gének íródnak át



eRNS: transzkripció enhancerek körül



eRNS: transzkripció enhancerek körül

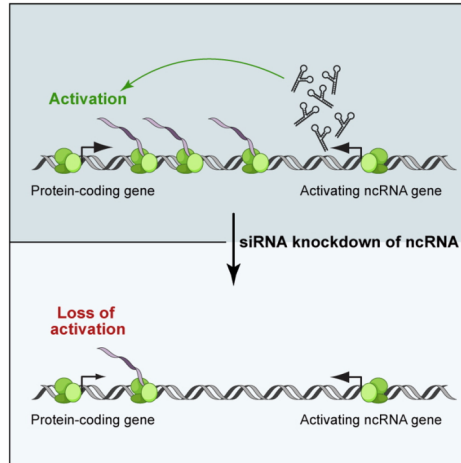


Még nem tudjuk:

- az eRNS-eknek van közvetlen enhancer funkciója?
- az átíródásuk során fellazuló kormatin a fontos csak?

(Ren (2010) Nature)

lncRNS-ek enhancer funkciója



(Ørom et al. (2010) *Cell*)