



ΕΛΛΗΝΙΚΗ ΔΗΜΟΚΡΑΤΙΑ

Εθνικόν και Καποδιστριακόν
Πανεπιστήμιον Αθηνών

ΙΔΡΥΘΕΝ ΤΟ 1837

ΣΧΟΛΗ ΘΕΤΙΚΩΝ ΕΠΙΣΤΗΜΩΝ

ΤΜΗΜΑ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

ΤΟΜΕΑΣ ΒΙΟΧΗΜΕΙΑΣ & ΜΟΡΙΑΚΗΣ ΒΙΟΛΟΓΙΑΣ

Η Γονιδιωματική δομή, η Χρωματίνη και το Νουκλεόσωμα

Παναγιώτης Αδαμόπουλος

Επίκουρος Καθηγητής, Τμήμα Βιολογίας, Ε.Κ.Π.Α

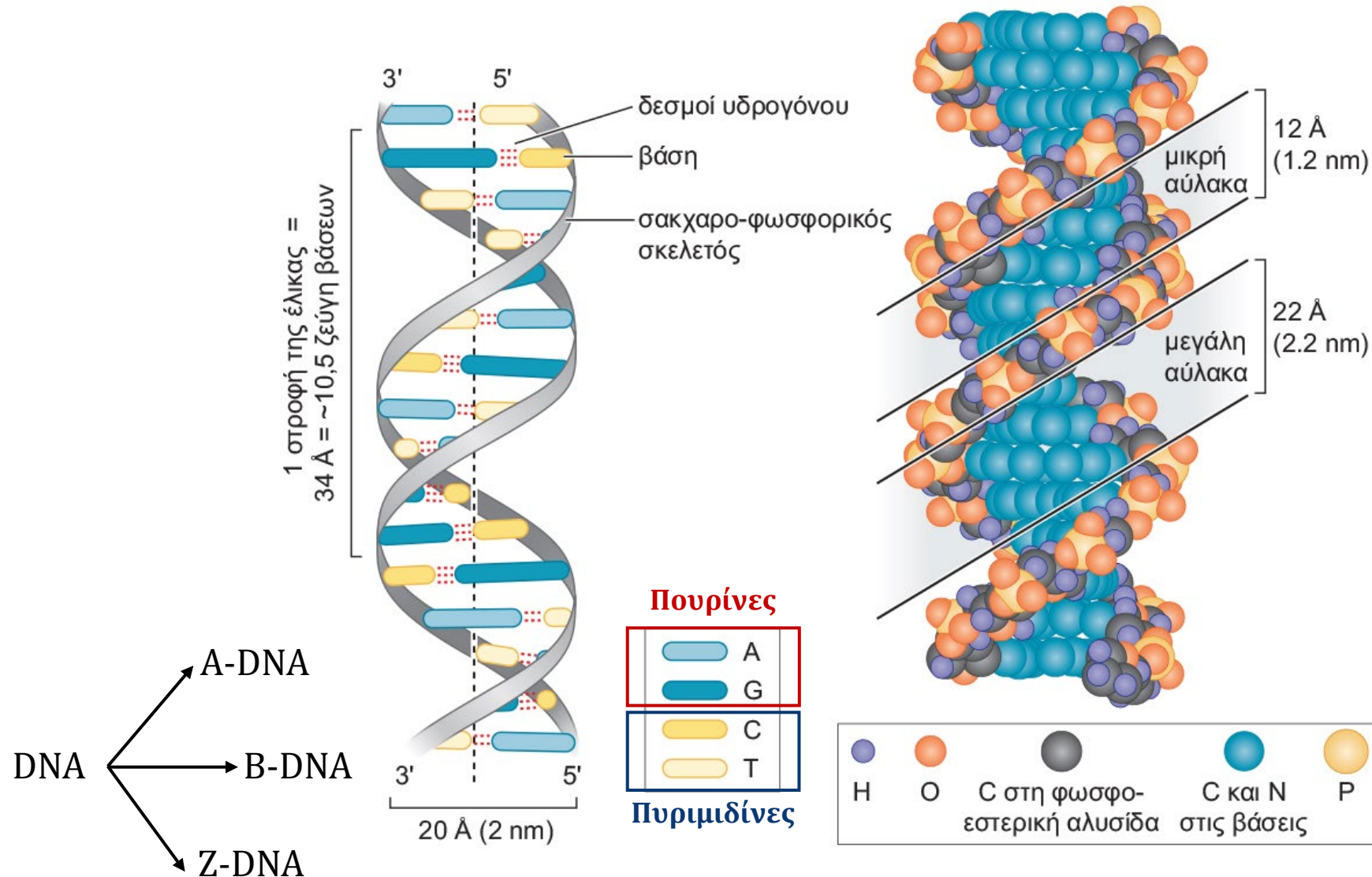
Η Γονιδιωματική Δομή, η Χρωματίνη και το Νουκλεόσωμα

Έννοιες

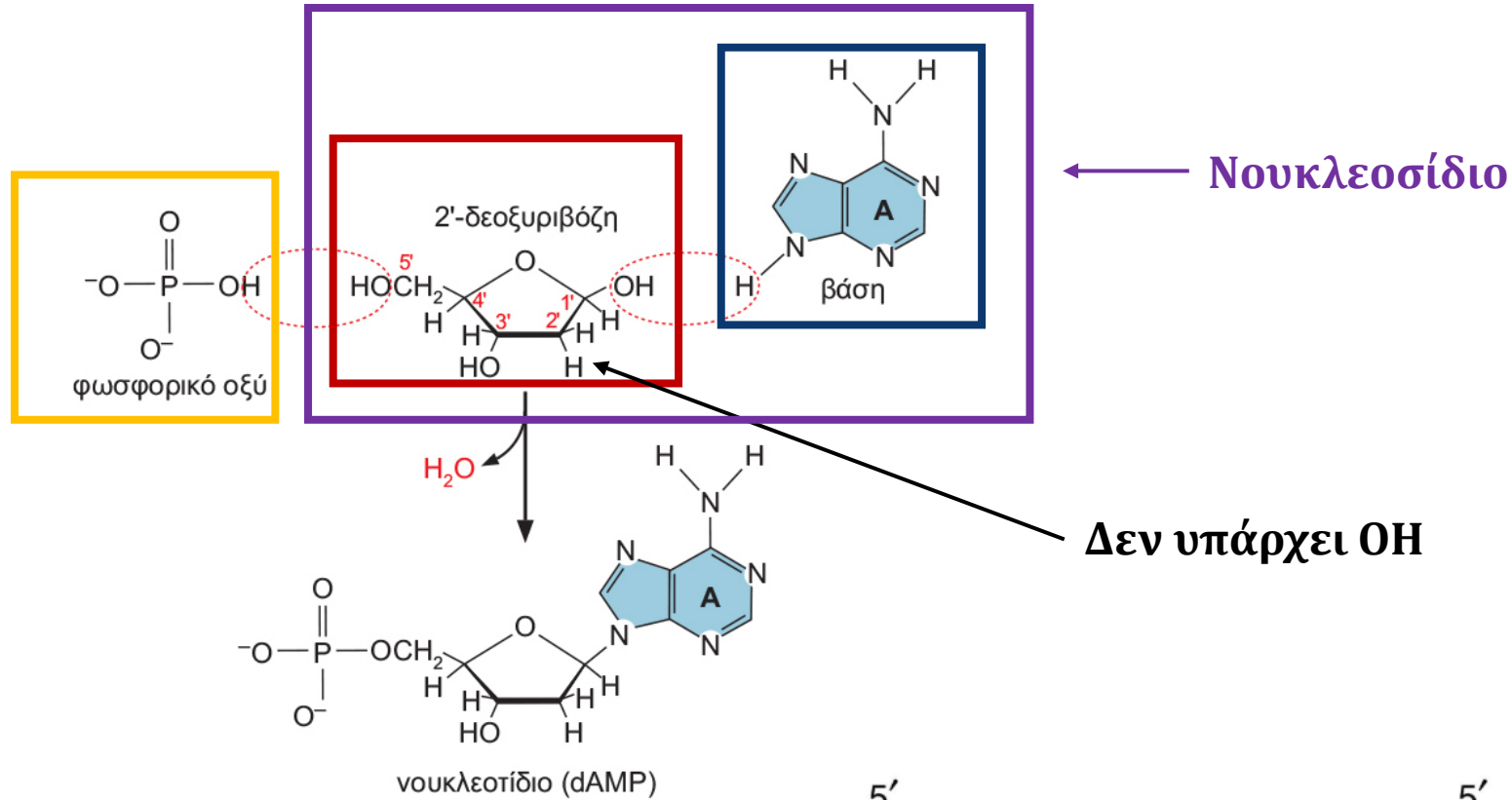
- Χρωμόσωμα (chromosome)
- Χρωματίνη (chromatin)
- Ιστόνες (histones)
- Μη-ιστόνες πρωτεΐνες (non-histone proteins)
- Νουκλεόσωμα (nucleosome)

Η Γονιδιωματική Δομή, η Χρωματίνη και το Νουκλεόσωμα

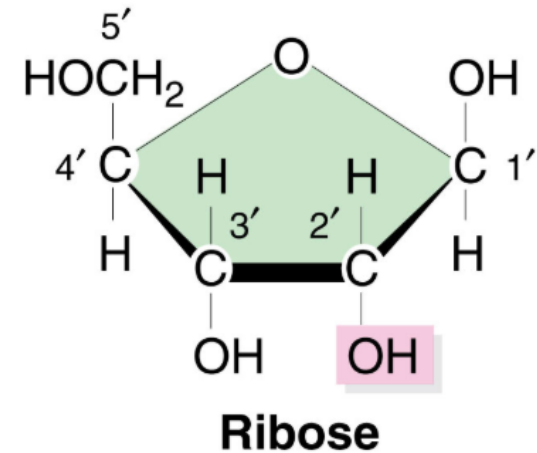
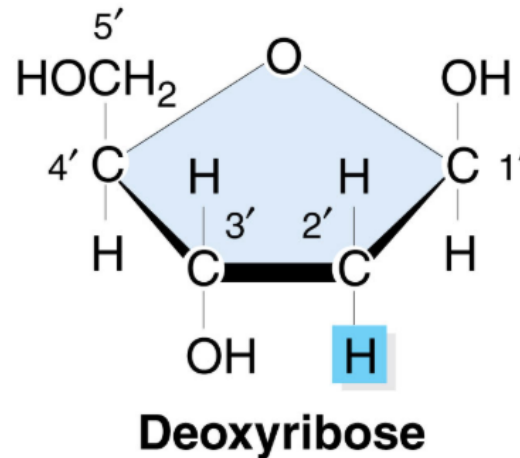
Το DNA αποτελείται συνήθως από δύο **πολυνουκλεοτιδικές αλυσίδες**, οι οποίες περιελόσσονται η μια γύρω από την άλλη.



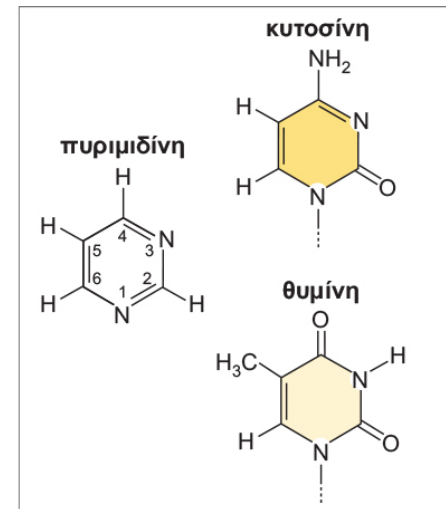
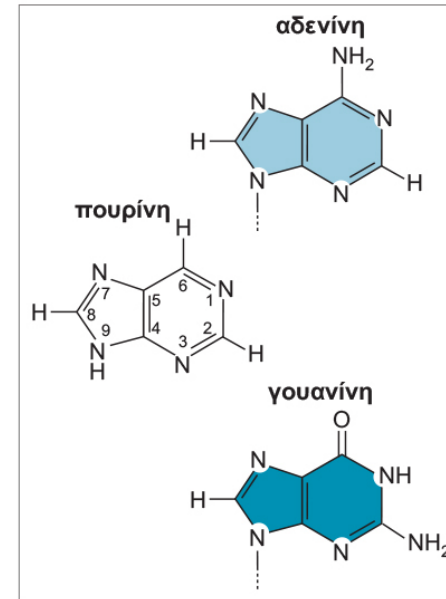
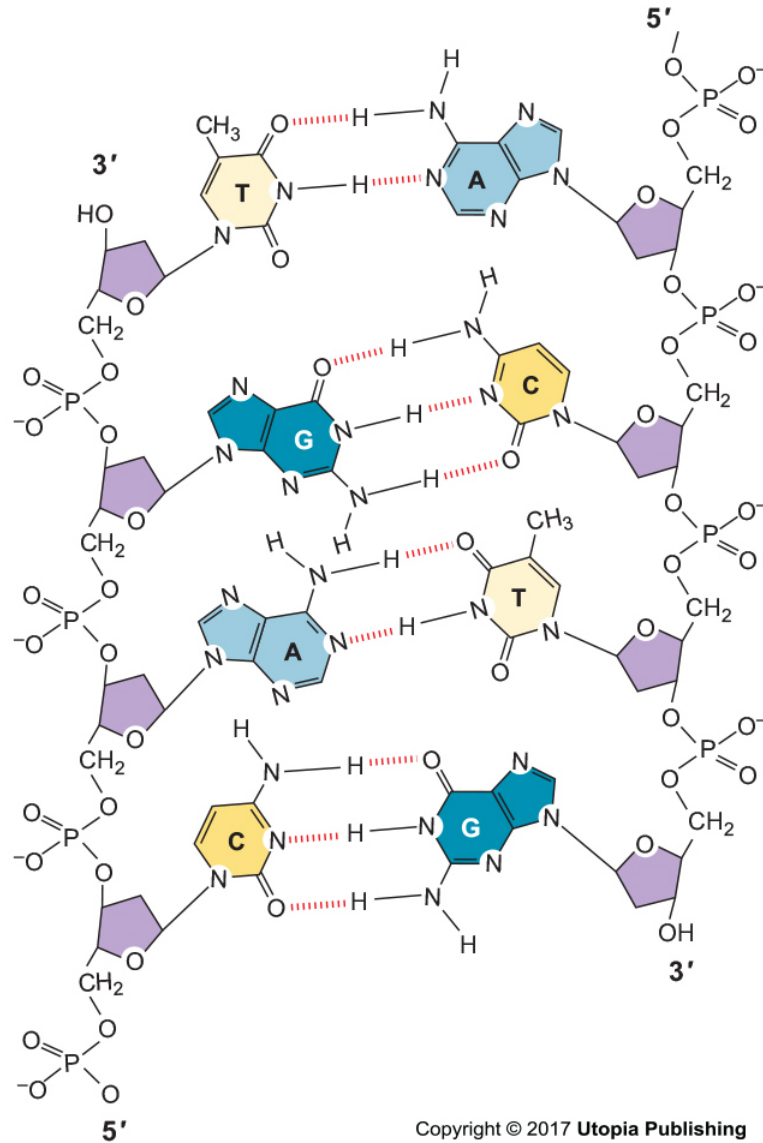
Η Γονιδιωματική Δομή, η Χρωματίνη και το Νουκλεόσωμα



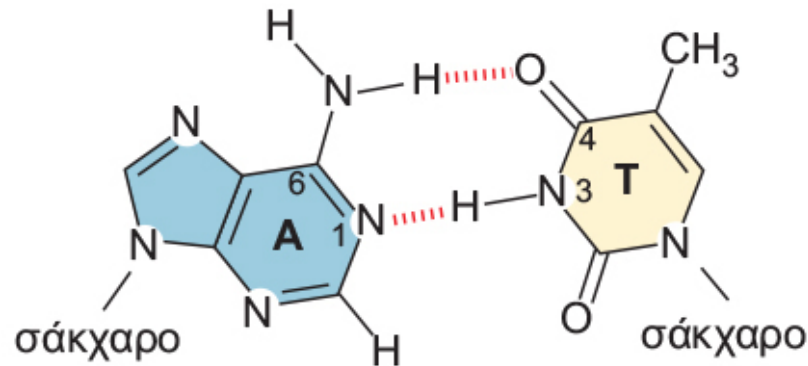
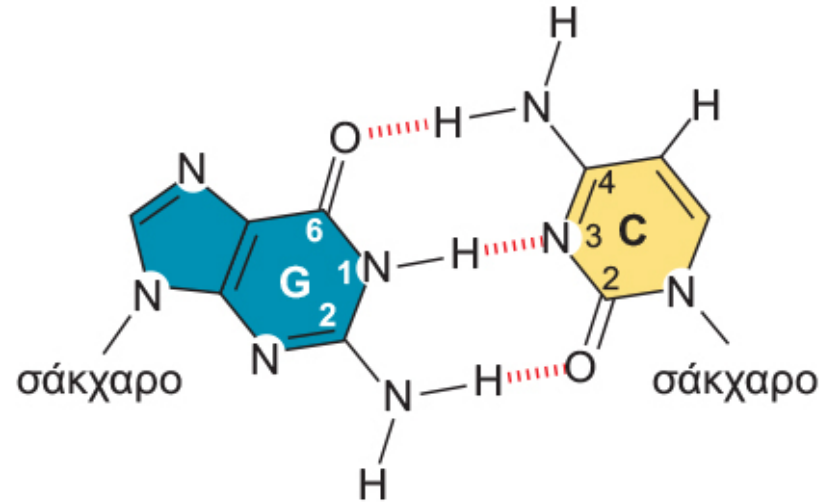
Copyright © 2017 Utopia Publishing



Η Γονιδιωματική Δομή, η Χρωματίνη και το Νουκλεόσωμα



Η Γονιδιωματική Δομή, η Χρωματίνη και το Νουκλεόσωμα



Η Γονιδιωματική Δομή, η Χρωματίνη και το Νουκλεόσωμα

Χρωμόσωμα: κάθε μόριο DNA μαζί με τις συνδεόμενες με αυτό πρωτεΐνες.

Αυτή η οργάνωση ισχύει για τα **προκαρυωτικά** και τα **ευκαρυωτικά** κύτταρα, ακόμα και για τους **ιούς**.

Το πακετάρισμα του DNA εξυπηρετεί σημαντικές λειτουργίες:

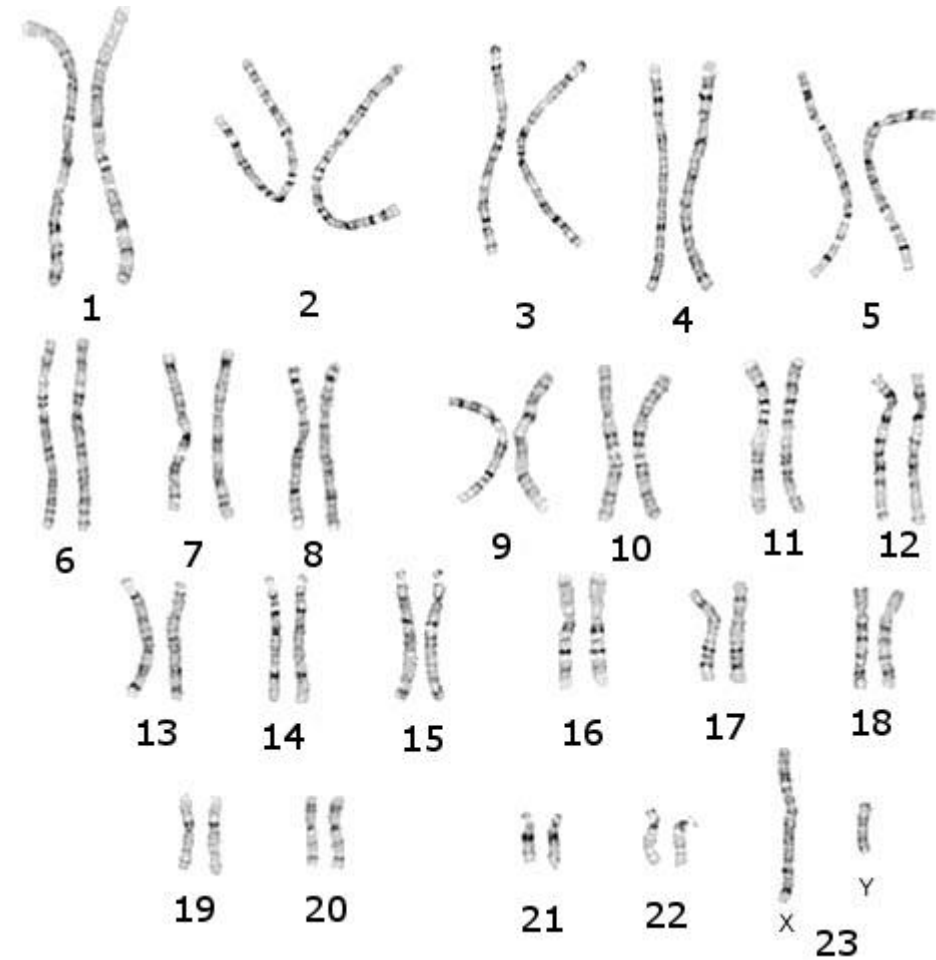
1.συμπαγής μορφή DNA, που προσαρμόζεται εύκολα στο εσωτερικό του κυττάρου.

2.προστασία του DNA από βλάβη. Τα απολύτως γυμνά μόρια DNA είναι σχετικά ασταθή στα κύτταρα.

3.μπορεί να μεταβιβαστεί αποτελεσματικά και στα δύο θυγατρικά κύτταρα

4.παρέχει μια συνολική οργάνωση σε κάθε μόριο DNA, η οποία ρυθμίζει την προσβασιμότητα του DNA → **σημαντική** για την αντιγραφή, μεταγραφή και επιδιόρθωση.

Η Γονιδιωματική Δομή, η Χρωματίνη και το Νουκλεόσωμα



Η Γονιδιωματική Δομή, η Χρωματίνη και το Νουκλεόσωμα

Χρωματίνη: μια δεδομένη περιοχή του DNA με τις συνδεδεμένες σε αυτό πρωτεΐνες.

Η πλειονότητα των συνδεόμενων πρωτεϊνών είναι μικρές, βασικές πρωτεΐνες, οι οποίες αποκαλούνται **ιστόνες (histones)**.

Υπάρχουν και άλλες πρωτεΐνες που συνδέονται με το DNA που ονομάζονται **μη ιστόνες πρωτεΐνες (non-histone proteins)**, οι οποίες όμως δεν είναι άφθονες.

Βασικές για:

- ✓ Ρύθμιση αντιγραφής
- ✓ Ρύθμιση της επιδιόρθωσης του DNA
- ✓ Ρύθμιση μεταγραφής
- ✓ Ρύθμιση του ανασυνδυασμού του κυτταρικού DNA

Η Γονιδιωματική Δομή, η Χρωματίνη και το Νουκλεόσωμα

Οι πρωτεΐνες που απαρτίζουν τη χρωματίνη καθιστούν το DNA συμπαγές

Ένα ανθρώπινο κύτταρο περιέχει **3×10^9 bp** ανά **απλοειδές σύνολο χρωμοσωμάτων**.
Το μέσο πάχος κάθε bp είναι 3,4 Å.

Απλοειδές DNA στο σύνολο των ανθρώπινων χρωμοσωμάτων
 $3 \times 10^9 \text{ nt} \times 3,4 \text{ Å} = \mathbf{10^{10} \text{ Å} \text{ ή } 1 \text{ m!!!}}$

ΌΜΩΣ

Η διάμετρος του πυρήνα ένας τυπικού ανθρώπινου κυττάρου = 10-15 μm !!

ΜΕΓΑΛΗ ΣΥΜΠΙΕΣΗ: ξεκινά με τα **ΝΟΥΚΛΕΟΣΩΜΑΤΑ**

Η *Escherichia coli* πρέπει να πακετάρει το ~1mm χρωμόσωμά της σε ένα κύτταρο, το οποίο έχει μήκος μόλις 1μm.

Τα **βακτήρια ΔΕΝ έχουν ιστόνες ή νουκλεοσώματα**, έχουν όμως άλλες βασικές πρωτεΐνες που μπορούν να εξυπηρετήσουν παρόμοιες λειτουργίες.

Γονιδιωματική αλληλουχία και Χρωμοσωμική ετερογένεια

Είδος	Αριθμός χρωμοσωμάτων	Αριθμός αντιγράφων ανά χρωμόσωμα	Μορφή χρωμοσώματος (-ων)	Μέγεθος γονιδιώματος (Mb)
Προκαρυώτες				
<i>Mycoplasma genitalium</i>	1	1	Κυκλικό	0,58
<i>Escherichia coli</i> K-12	1	1	Κυκλικό	4,6
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	4	1	3 κυκλικά 1 γραμμικό	5,67
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	3	1	Κυκλικό	6,7
Ευκαρυώτες				
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (βλαστομύκητας)	16	1 ή 2	Γραμμικά	12,1
<i>Schizosaccharomyces pombe</i> (σχιστομύκητας)	3	1 ή 2	Γραμμικά	12,5
<i>Caenorhabditis elegans</i> (ασκαρίδα)	6	2	Γραμμικά	97
<i>Arabidopsis thaliana</i> (ζιζάνιο)	5	2	Γραμμικά	125
<i>Drosophila melanogaster</i> (μύγα του ξιδιού)	4	2	Γραμμικά	180
<i>Tetrahymena thermophilus</i> (πρωτόζωο)	5	2	Γραμμικά	125
Μικροπυρήνας	225	10 – 10.000	Γραμμικά	
Μακροπυρήνας			Γραμμικά	
<i>Fugu rubripes</i> (ψάρι)	22	2	Γραμμικά	393
<i>Mus musculus</i> (ποντικός)	19 + X και Y	2	Γραμμικά	2.600
<i>Homo sapiens</i>	22 + X και Y	2	Γραμμικά	3.200

Τα χρωμοσώματα μπορούν να είναι:

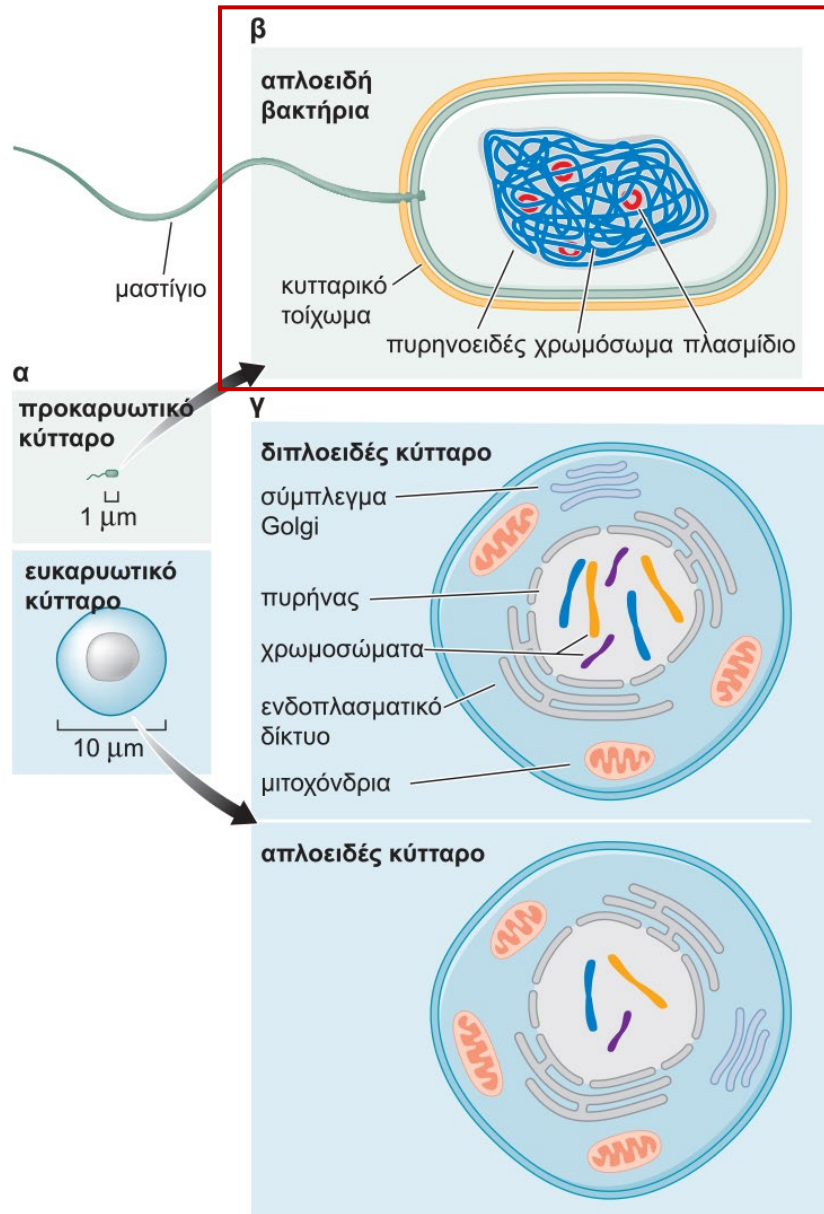
- Γραμμικά
- Κυκλικά

Τα κυκλικά χρωμοσώματα χρειάζονται **τοποϊσομεράσες** για να διαχωρίσουν τα θυγατρικά μόρια αφού αυτά αντιγραφούν.

Τα άκρα των γραμμικών χρωμοσωμάτων πρέπει να προστατεύονται από ένζυμα, τα οποία υπό φυσιολογικές συνθήκες αποικοδομούν τα άκρα του DNA.

1 Mb = 1 megabase = 1,000,000 bp
1Gb = 1gigabase = 1,000,000,000 bp

Γονιδιωματική αλληλουχία και Χρωμοσωμική ετερογένεια

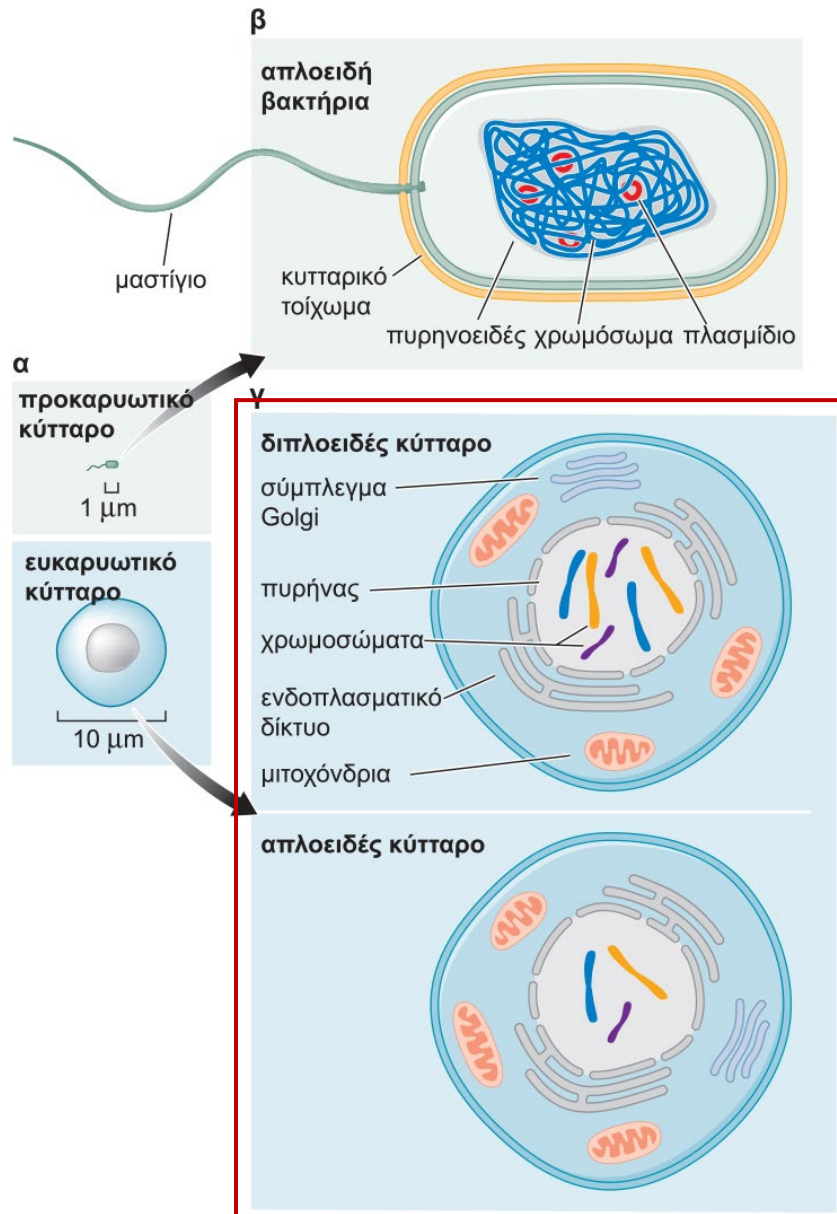


- Κάθε κύτταρο διατηρεί έναν χαρακτηριστικό αριθμό χρωσωμάτων.
- Τα προκαρυωτικά κύτταρα έχουν **μόνο ένα πλήρες αντίγραφο** του/των χρωμοσώματος/ων τους, το οποίο είναι πακεταρισμένο σε μια δομή που ονομάζεται **πυρηνοειδές (nucleoid)**.
- Οι προκαρυώτες φέρουν επίσης, συχνά, ένα ή περισσότερα μικρότερα κυκλικά μόρια DNA, τα οποία ονομάζονται **πλασμίδια (plasmids)**.

Τα πλασμίδια:

- ✓ Δεν είναι βασικά για τη βακτηριακή αύξηση.
- ✓ Φέρουν γονίδια, τα οποία παρέχουν επιθυμητά γνωρίσματα στα βακτήρια.
- ✓ Βρίσκονται συχνά σε πολλά πλήρη αντίγραφα ανά κύτταρο.

Γονιδιωματική αλληλουχία και Χρωμοσωμική ετερογένεια



- Τα ευκαρυωτικά κύτταρα είναι συνήθως **διπλοειδή (diploid)**.
- Τα δύο αντίγραφα του ίδιου χρωμοσώματος ονομάζονται **ομόλογα (homologs)**.
- Ωστόσο, ΔΕΝ είναι όλα τα κύτταρα σε έναν ευκαρυωτικό οργανισμό διπλοειδή.
- Υπάρχουν κύτταρα που περιέχουν ένα μονήρες αντίγραφο από κάθε χρωμόσωμα και ονομάζονται **απλοειδή (haploid)**.
- Σπερματοκύτταρα
- Ωοκύτταρα
- Τα **πολυπλοειδή (polyploid)** κύτταρα έχουν δύο ή περισσότερα αντίγραφα από κάθε χρωμόσωμα (πχ. megakaryocytes).

Γονιδιωματική ενίσχυση = Amplification

Γονιδιωματική αλληλουχία και Χρωμοσωμική ετερογένεια

Το μέγεθος του γονιδιώματος συσχετίζεται με την πολυπλοκότητα του οργανισμού:

✓ Τα προκαρυωτικά κύτταρα τυπικά έχουν γονιδιώματα <10Mb.

✓ Τα γονιδιώματα των μονοκύτταρων ευκαρυωτών είναι συνήθως <50Mb.

✓ Οι πολυκύτταροι οργανισμοί έχουν ακόμα μεγαλύτερα γονιδιώματα, τα οποία μπορεί να είναι >100.000Mb.

ΌΜΩΣ

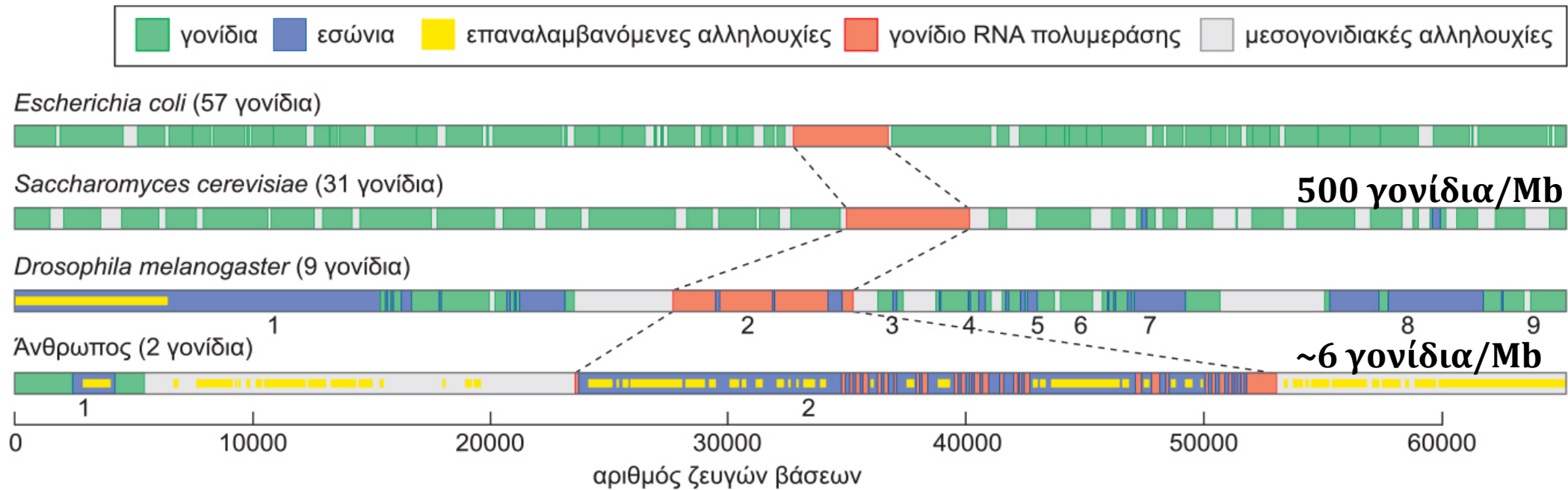
Γονιδίωμα ρυζιού ~40 μικρότερο από το γονιδίωμα σιταριού.

ΟΧΙ τέλεια συσχέτιση μεταξύ μεγέθους γονιδιώματος και πολυπλοκότητας οργανισμού

Είδος	Μέγεθος γονιδιώματος (Mb)	Κατά προσέγγιση αριθμός γονιδίων	Γονιδιακή πυκνότητα (Γονίδια/Mb)
Προκαρυώτες (βακτήρια)			
<i>Mycoplasma genitalium</i>	0,58	500	860
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2,2	2.300	1.060
<i>Escherichia coli K-12</i>	4,6	4.400	950
<i>Agrobacterium tumefaciens</i>	5,7	5.400	960
<i>Sinorhizobium meliloti</i>	6,7	6.200	930
Ευκαρυώτες (ζώα)			
Μύκητες			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	12	5.800	480
<i>Schizosaccharomyces pombe</i>	12	4.900	410
Πρωτόζωα			
<i>Tetrahymena thermophila</i>	125	27.000	220
Ασπόνδυλα			
<i>Caenorhabditis elegans</i>	103	20.000	190
<i>Drosophila melanogaster</i>	180	14.700	82
<i>Ciona intestinalis</i>	160	16.000	100
<i>Locusta migratoria</i>	5.000	nd	nd
Σπονδυλωτά			
<i>Fugu rubripes</i> (ψάρι puffer)	393	22.000	56
<i>Homo sapiens</i>	3.200	20.000	6,25
<i>Mus musculus</i> (ποντικός)	2.600	22.000	8,5
Φυτά			
<i>Arabidopsis thaliana</i>	120	26.500	220
<i>Oryza sativa</i> (ρύζι)	430	~ 45.000	~ 100
<i>Zea mays</i> (καλαμπόκι)	2.200	>45.000	>20
<i>Triticum aestivum</i> (σιτάρι)	16.000	nd	nd
<i>Fritillaria assyriaca</i> (τουλίπια)	~ 120.000	nd	nd

nd, μη καθορισμένος

Γονιδιωματική αλληλουχία και Χρωμοσωμική ετερογένεια



Copyright © 2017 Utopia Publishing

- Ένα απλό μέτρο της **γονιδιακής πυκνότητας** είναι ο μέσος αριθμός γονιδίων ανά Mb γονιδιωματικού DNA.
- Το γονιδίωμα της *E. coli* αποτελείται σχεδόν εξ' ολοκλήρου από γονίδια.
- Η βακτηριακή γονιδιακή πυκνότητα είναι σταθερά κοντά στα 1.000 γονίδια/Mb.
- Περισσότερο σύνθετοι οργανισμοί έχουν μειωμένη γονιδιακή πυκνότητα.

Τα γονίδια αποτελούν ένα μικρό μόνο κλάσμα του ευκαρυωτικού χρωμοσωματικού DNA

Γονιδιωματική αλληλουχία και Χρωμοσωμική ετερογένεια

Είδος	Γονιδιακή πυκνότητα (Γονίδια/MB)	Μέσος αριθμός εσωνίων ανά γονίδιο	% ποσοστό επαναλαμβανόμενου DNA
Προκαρυώτες (βακτήρια)			
<i>Escherichia coli</i> K-12	950	0	<1
Ευκαρυώτες (ζώα)			
Μύκητες			
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	480	0,04	3,4
Ασπόνδυλα			
<i>Caenorhabditis elegans</i>	190	5	6,3
<i>Drosophila melanogaster</i>	82	3	12
Σπονδυλωτά			
<i>Fugu rubripes</i>	56	5	2,7
<i>Homo sapiens</i>	6,25	6	46
Φυτά			
<i>Arabidopsis thaliana</i>	220	3	nd
<i>Oryza sativa</i> (ρύζι)	~ 100	nd	42

nd, μη καθορισμένο

Γονιδιωματική αλληλουχία και Χρωμοσωμική ετερογένεια

Δύο παράγοντες συμβάλλουν στη μειωμένη γονιδιακή πυκνότητα που παρατηρείται στα ευκαρυωτικά κύτταρα:

- Οι αυξήσεις στο **γονιδιακό μέγεθος**.
- Οι **αλληλουχίες DNA μεταξύ των γονιδίων**. Οι περιοχές αυτές ονομάζονται **μεσογονιδιακές αλληλουχίες (intergenic sequences)**.

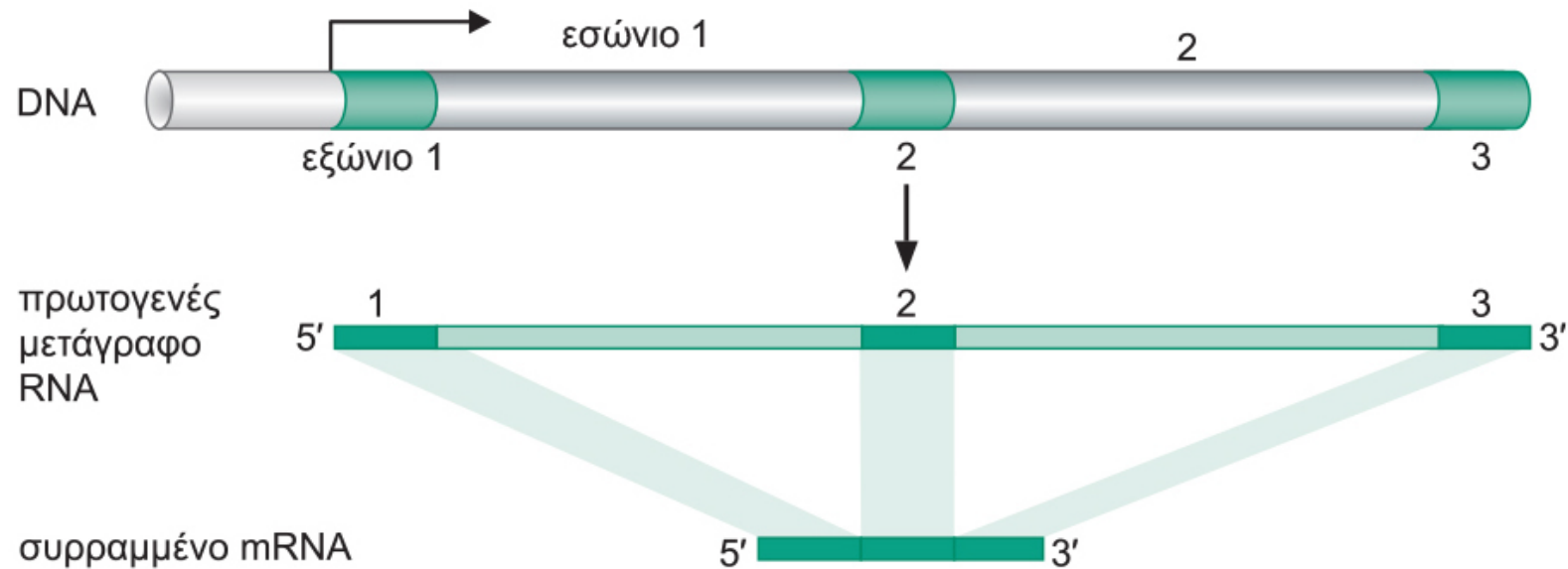
Ο κύριος λόγος για τον οποίο το γονιδιακό μέγεθος είναι μεγαλύτερο στους περισσότερους σύνθετους οργανισμούς δεν είναι ότι η μέση πρωτεΐνη που μεταφράζεται είναι μεγαλύτερη ή ότι απαιτείται περισσότερο DNA για να κωδικοποιηθεί η ίδια πρωτεΐνη.

Αντ' αυτού...

Τα γονίδια που κωδικοποιούν πρωτεΐνες στους ευκαρυώτες συχνά έχουν ασυνεχείς περιοχές που κωδικοποιούν πρωτεΐνη:

- ✓ Οι διάσπαρτες περιοχές μη κωδικοποίησης πρωτεϊνών ονομάζονται **εσώνια ή ιντρόνια (introns)**.
- ✓ Οι περιοχές που κωδικοποιούν για πρωτεΐνη ονομάζονται **εξώνια (exons)**.

Γονιδιωματική αλληλουχία και Χρωμοσωμική ετερογένεια



Copyright © 2017 Utopia Publishing

- Τα εσώνια απομακρύνονται από το μεταγραφόμενο RNA μετά τη μεταγραφή, μέσω μιας διαδικασίας που ονομάζεται **συρραφή του RNA (RNA splicing)**.
- Όμως, η παρουσία των εσωνίων μπορεί να αυξήσει δραματικά το μήκος του DNA που απαιτείται για να κωδικοποιήσει ένα γονίδιο.

Παράδειγμα...

Μέσο μήκος ανθρώπινου γονιδίου: ~27 kb.

Μέση περιοχή κωδικοποίησης πρωτεΐνης ενός ανθρώπινου γονιδίου: ~1.3 kb.

Γονιδιωματική αλληλουχία και Χρωμοσωμική ετερογένεια

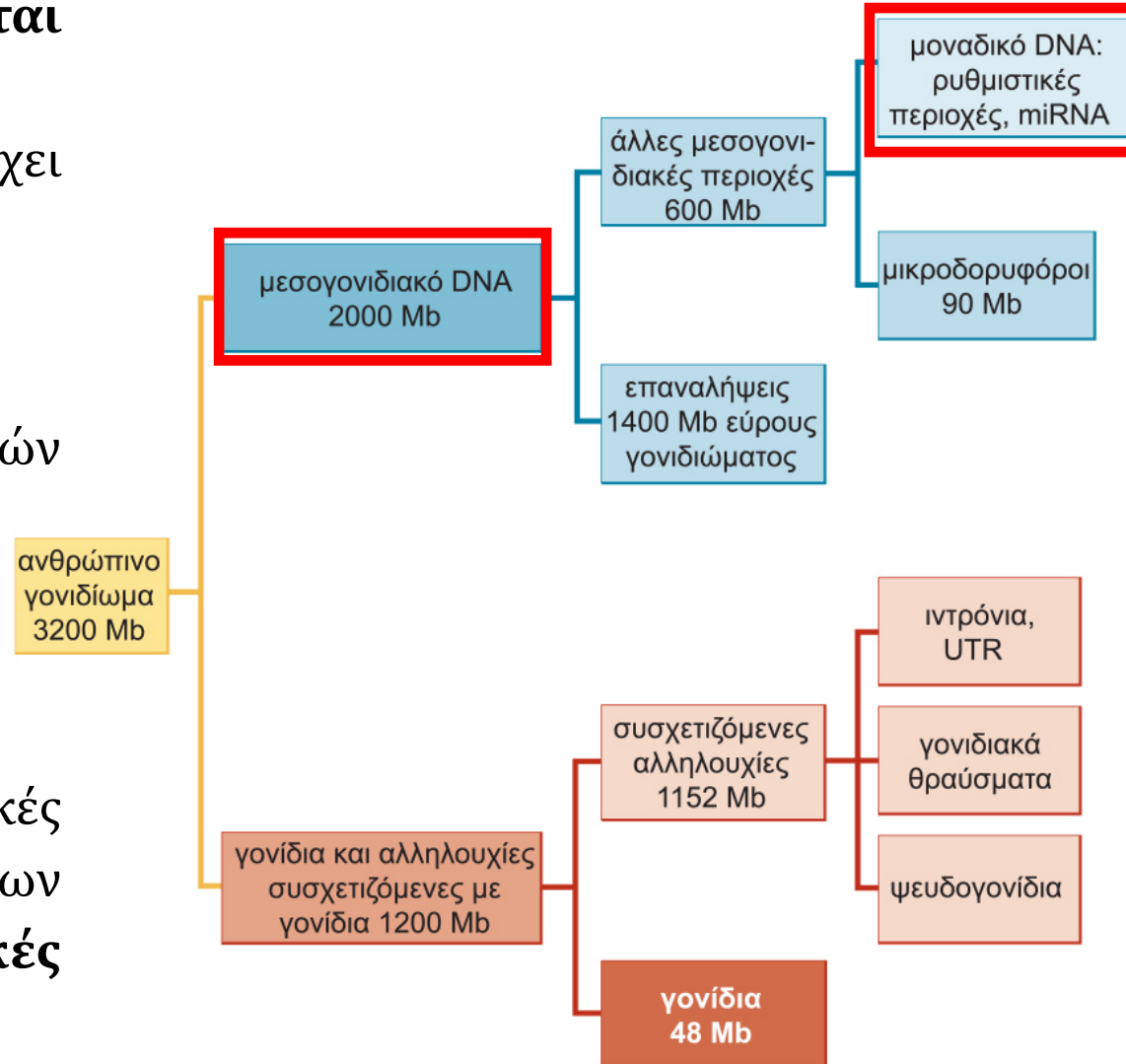
Περισσότερο από το 60% του ανθρώπινου γονιδιώματος αποτελείται από μεσογονιδιακές αλληλουχίες.

Ένα μεγάλο τμήμα αυτού του DNA έχει ακόμα και σήμερα άγνωστη λειτουργία.

Υπάρχουν δύο είδη μεσογονιδιακών αλληλουχιών DNA:

1. Οι μοναδικές
2. Οι επαναλαμβανόμενες

Περίπου το $\frac{1}{4}$ αποτελείται από μοναδικές αλληλουχίες. Ένα σημαντικό τμήμα των περιοχών αυτών είναι οι **ρυθμιστικές περιοχές (regulatory sequences)**.



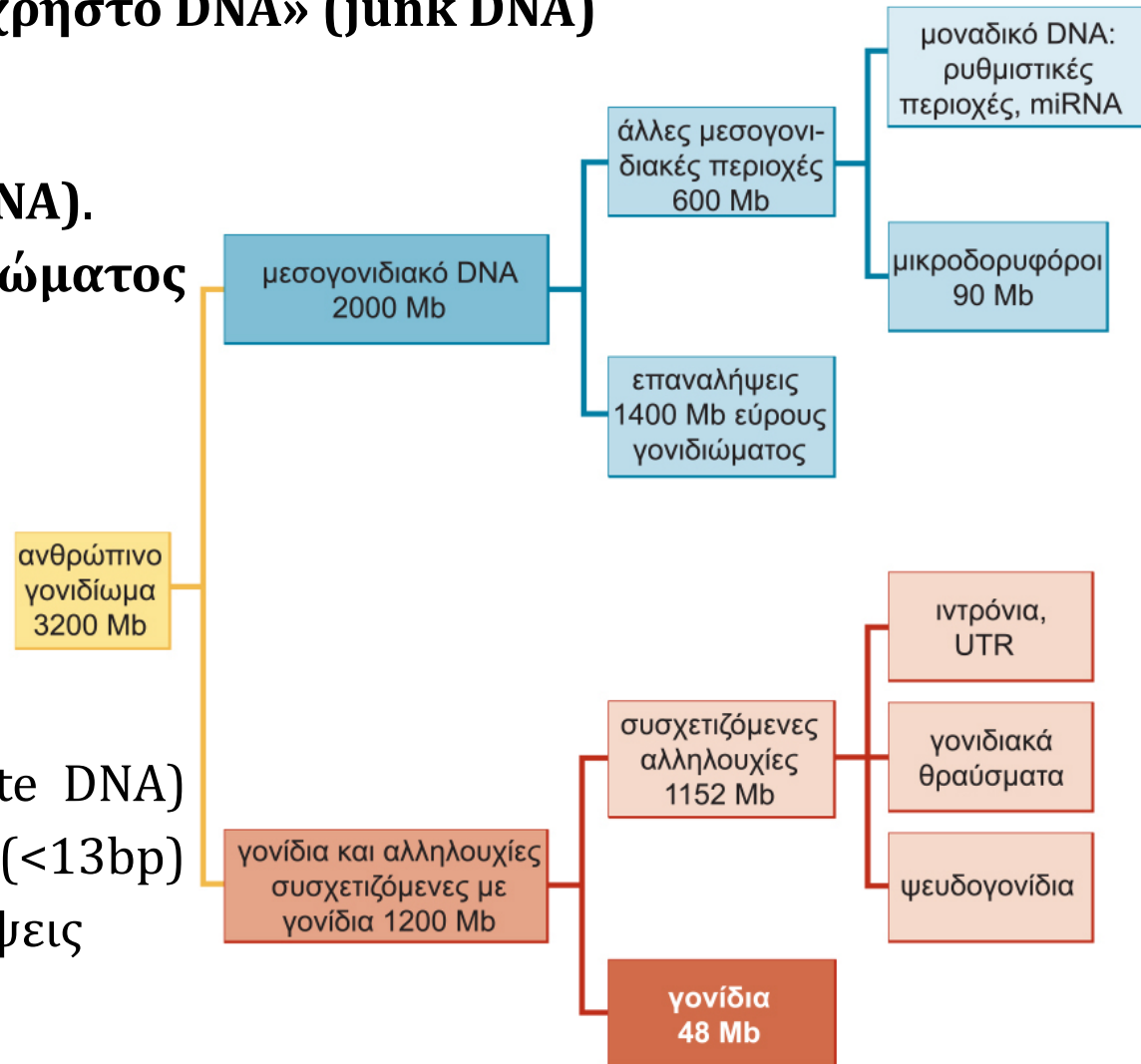
Γονιδιωματική αλληλουχία και Χρωμοσωμική ετερογένεια

Στην πλειονότητά τους οι μεσογονιδιακές αλληλουχίες στον άνθρωπο αποτελούνται από επαναλαμβανόμενο DNA.  «άχρηστο DNA» (junk DNA)

Κατηγορίες επαναλαμβανόμενου DNA:

1. Μικροδορυφορικό (microsatellite DNA).
2. Επαναλήψεις εύρους γονιδιώματος (genome-wide repeats).

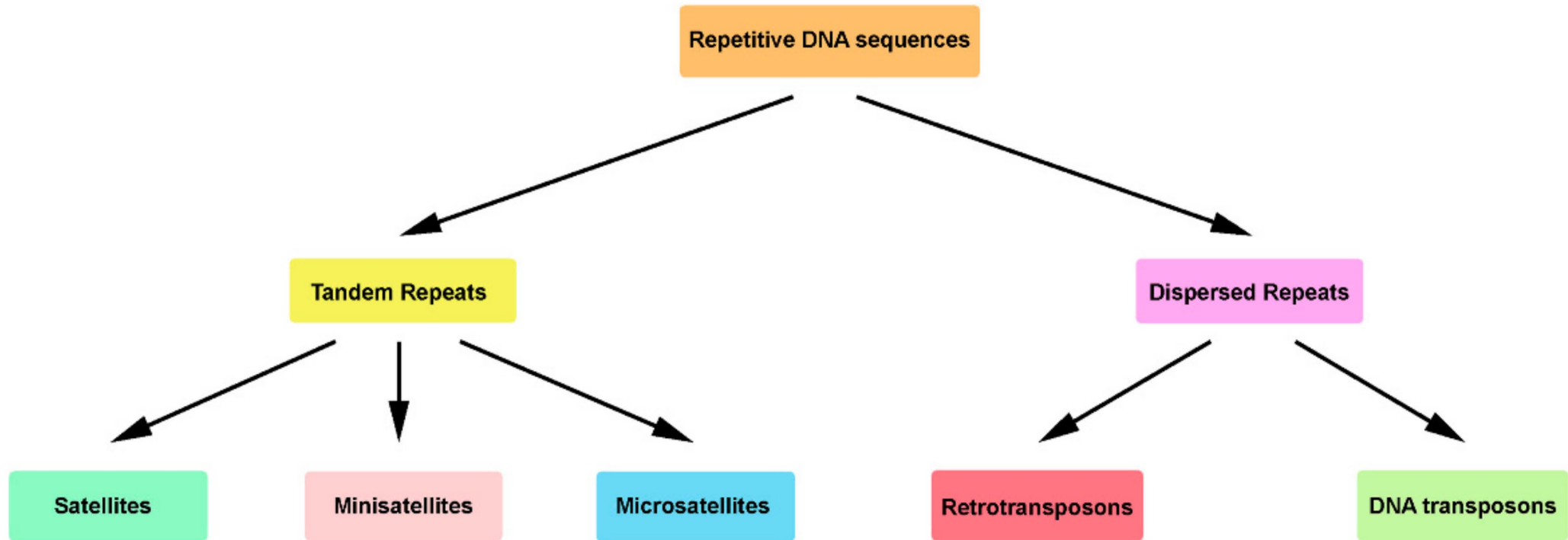
Το μικροδορυφορικό DNA (microsatellite DNA) αποτελείται από πολύ βραχείες (<13bp) διαδοχικά επαναλαμβανόμενες επαναλήψεις (πχ. CACACACACACACACACA).



Γονιδιωματική αλληλουχία και Χρωμοσωμική ετερογένεια

- Οι επαναλήψεις εύρους γονιδιώματος (genome-wide repeats) είναι αρκετά μεγαλύτερες και κάθε μονάδα επανάληψης μπορεί να έχει μήκος **>100bp** ή ακόμα **>1kb**.
- Υπάρχουν είτε ως μονήρη αντίγραφα διάσπαρτα σε όλη την έκταση του γονιδιώματος είτε ως στενά χωροθετημένα αθροίσματα.
- Το κοινό τους γνώρισμα είναι ότι όλες είναι μορφές **μεταθετών στοιχείων (transposable elements)**.
- **Μεταθετά στοιχεία:** Αλληλουχίες που μπορούν να «μετακινηθούν» από ένα τόπο στο γονιδίωμα στο άλλο.
- Ως εκ τούτου, πολλαπλασιάζονται και συσσωρεύονται καθ' όλη την έκταση του γονιδιώματος.

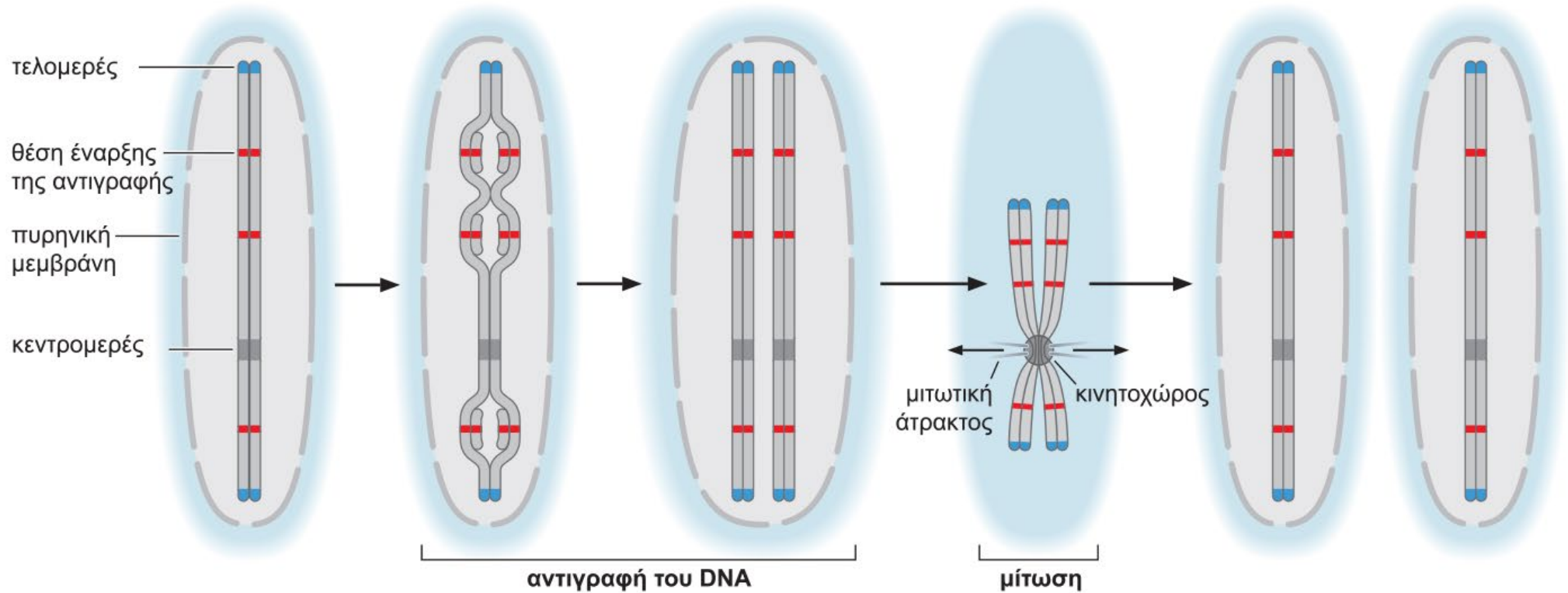
Γονιδιωματική αλληλουχία και Χρωμοσωμική ετερογένεια



Μη κωδικές αλληλουχίες, αλλά έχουν σημαντικό ρόλο στη δομή, ρύθμιση και εξέλιξη του γονιδιώματος

Διπλασιασμός και Διαχωρισμός των Χρωμοσωμάτων

Τα ευκαρυωτικά κύτταρα απαιτούν **κεντρομερή**, **τελομερή** και **θέσεις έναρξης της αντιγραφής** για να διατηρηθούν κατά τη διάρκεια της κυτταρικής διαίρεσης



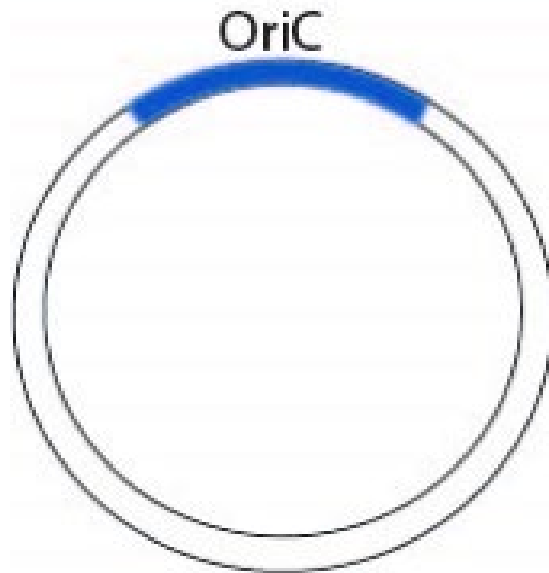
Copyright © 2017 Utopia Publishing

Κάθε ευκαρυωτικό χρωμόσωμα περιλαμβάνει: **ένα κεντρομερές**, **δύο τελομερή** και **πολλές θέσεις έναρξης της αντιγραφής**.

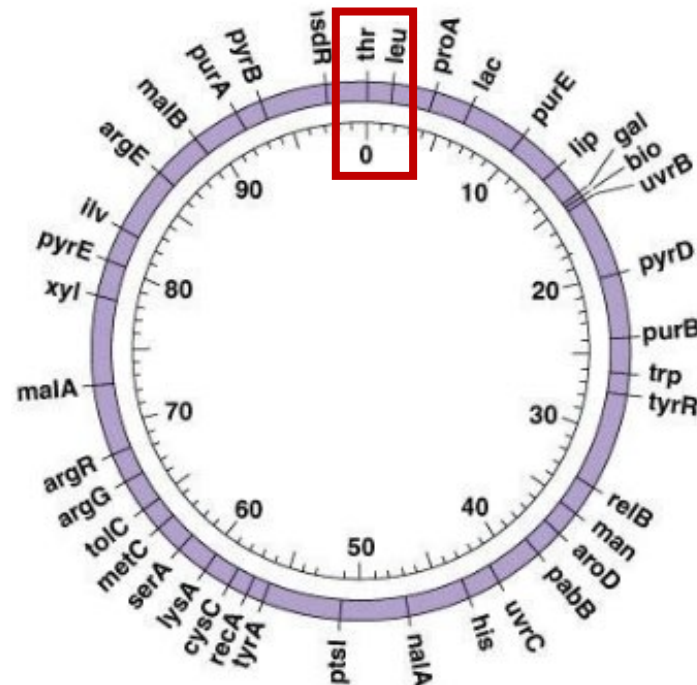
Διπλασιασμός και Διαχωρισμός των Χρωμοσωμάτων

Θέσεις έναρξης αντιγραφής (origins of replication)

- Τόποι στους οποίους συγκροτείται ο μηχανισμός της αντιγραφής του DNA.
- Υπάρχουν σε απόσταση 30-40kb μεταξύ τους σε όλο το μήκος κάθε ευκαρυωτικού χρωμοσώματος.
- Κατά κανόνα, απαντώνται σε μη κωδικοποιητικές περιοχές.
- Θέσεις έναρξης αντιγραφής υπάρχουν και στα προκαρυωτικά χρωμοσώματα, ωστόσο στα προκαρυωτικά κύτταρα υπάρχει συνήθως μια θέση έναρξης.



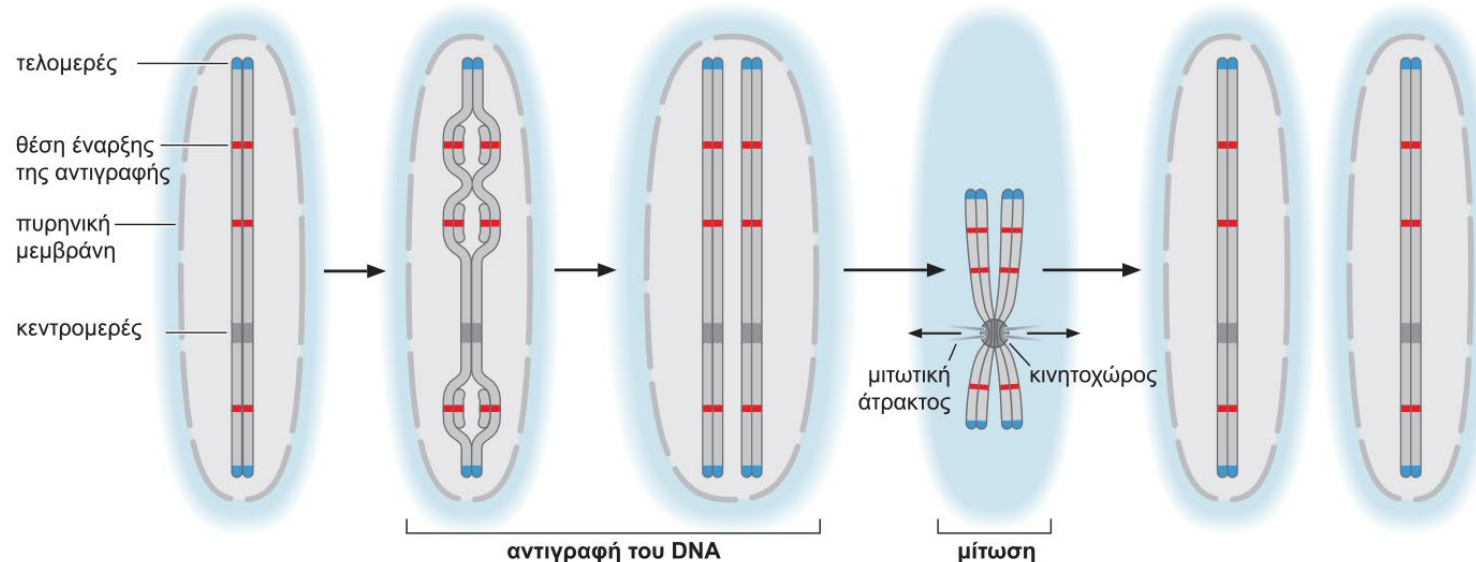
E. Coli chromosome



Διπλασιασμός και Διαχωρισμός των Χρωμοσωμάτων

Κεντρομερή (centromeres)

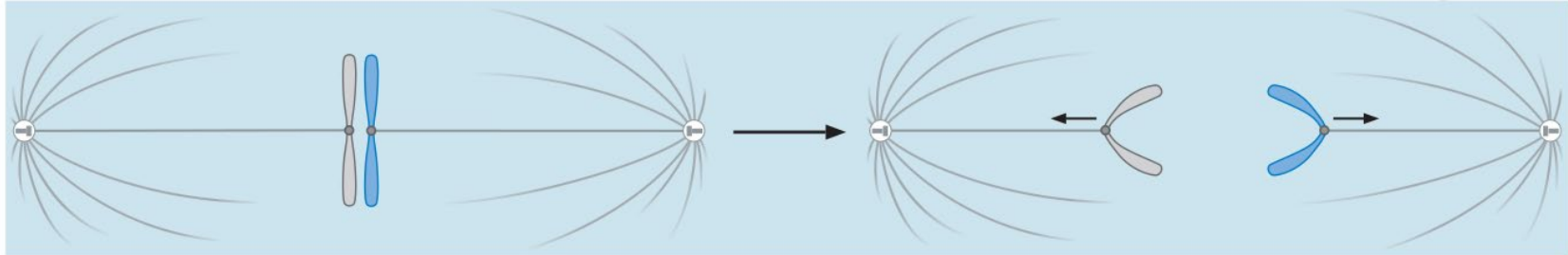
- Απαιτούνται για σωστό διαχωρισμό των χρωμοσωμάτων μετά την αντιγραφή του DNA.
- Τα δύο αντίγραφα κάθε αντιγραφμένου χρωμοσώματος ονομάζονται **αδελφά χρωμοσώματα**.
- Κατευθύνουν το σχηματισμό ενός περίπλοκου πρωτεϊνικού συμπλόκου, το οποίο καλείται **κινητοχώρος (kinetochore)**.
- Ο κινητοχώρος αλληλεπιδρά με το DNA του κεντρομερούς και με πρωτεϊνικά νημάτια που ονομάζονται **μικροσωληνίσκοι (microtubules)**.



Διπλασιασμός και Διαχωρισμός των Χρωμοσωμάτων

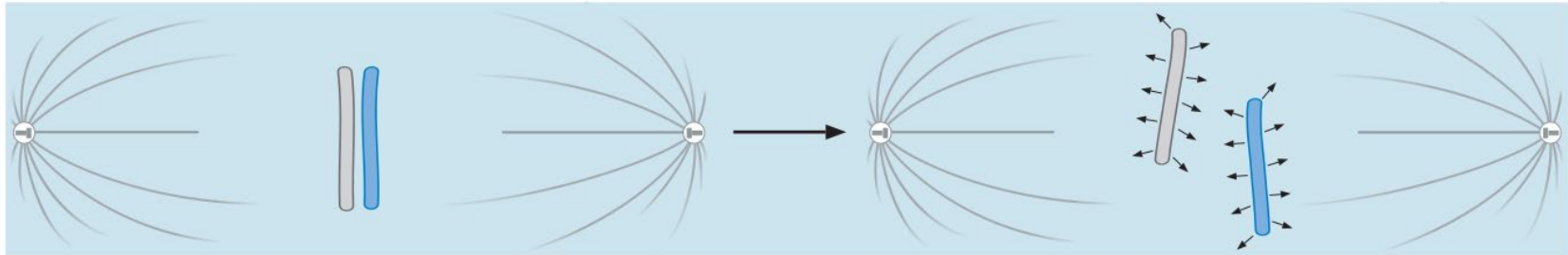
Είναι **κρίσιμο** κάθε χρωμόσωμα να έχει **μόνο** ένα κεντρομερές

α ένα κεντρομερές



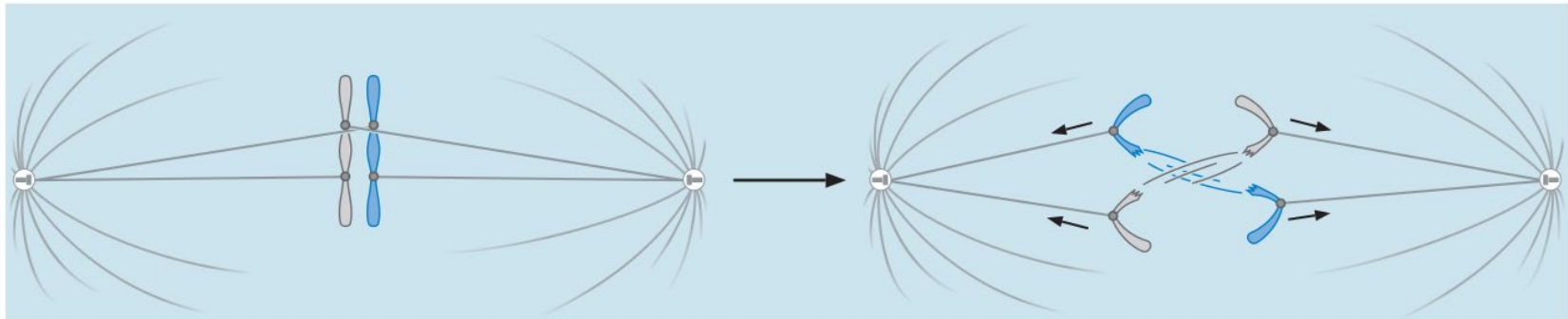
ένα χρωμόσωμα για κάθε κύτταρο

β κανένα κεντρομερές



τυχαίος διαχωρισμός του χρωμοσώματος

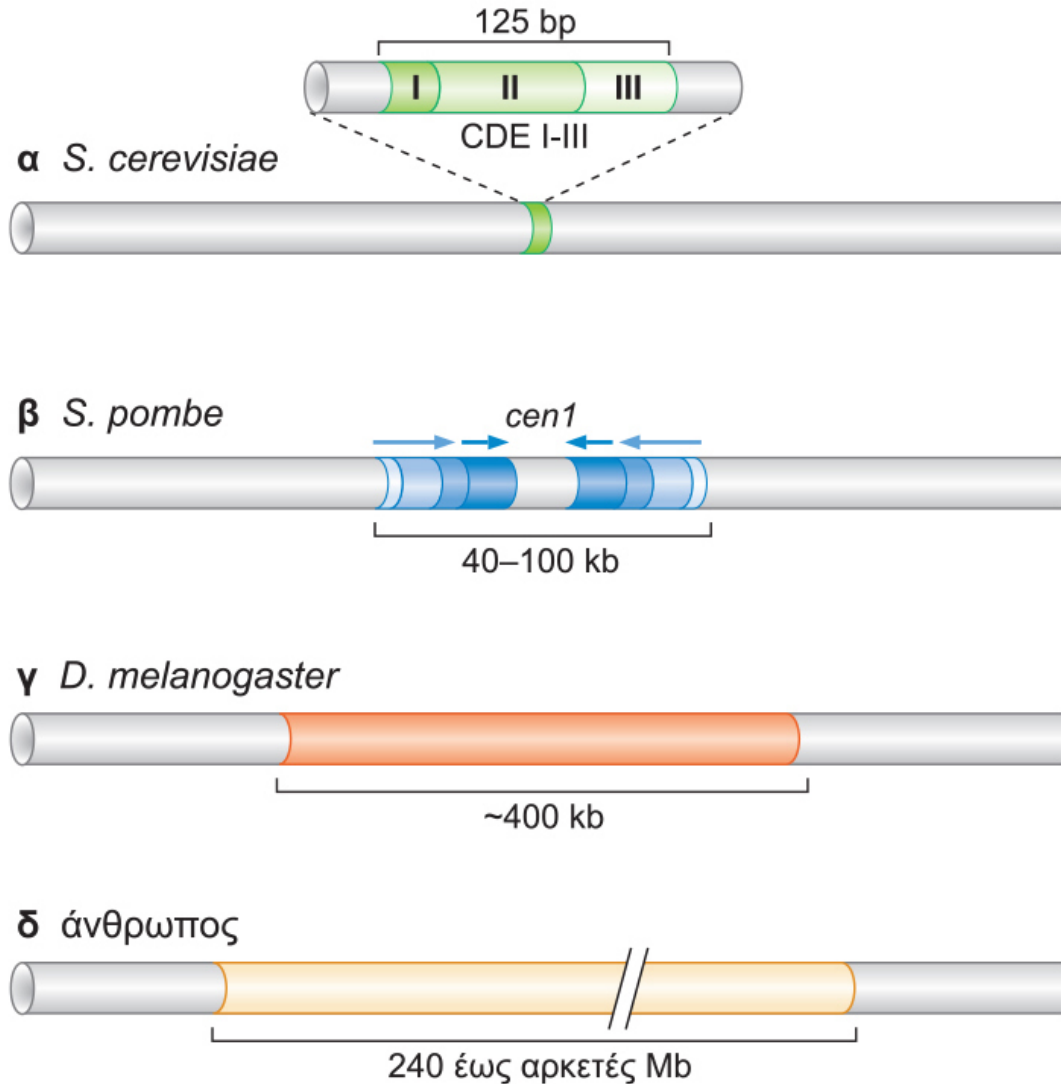
γ δύο κεντρομερή



χρωμοσωματική θραύση
(λόγω των περισσοτέρων του ενός κεντρομερών)

Διπλασιασμός και Διαχωρισμός των Χρωσωμάτων

Τα κεντρομερή ποικίλλουν σημαντικά σε μέγεθος



Διπλασιασμός και Διαχωρισμός των Χρωμοσωμάτων

Τελομερή (telomeres)

- Εδράζονται στα δύο άκρα κάθε γραμμικού χρωμοσώματος.
- Δεσμεύονται από πρωτεΐνες.
- Οι τελομερικές πρωτεΐνες διακρίνουν τα φυσικά άκρα του χρωμοσώματος από **θέσεις χρωμοσωματικής θραύσης ή άλλες DNA θραύσεις** στο κύτταρο.
- Τα άκρα του DNA είναι θέσεις συχνού **ανασυνδυασμού και αποικοδόμησης**.
- Οι πρωτεΐνες που συναθροίζονται στα τελομερή σχηματίζουν μια δομή, η οποία είναι ανθεκτική και στα δύο αυτά γεγονότα.
- **ΠΡΟΣΟΧΗ:** τα τελομερή λειτουργούν ως μια **εξειδικευμένη θέση αντιγραφής** που επιτρέπει στο κύτταρο να αντιγράψει τα άκρα των χρωμοσωμάτων. Για να πραγματοποιηθεί η αντιγραφή αυτή, στρατολογείται μια ειδική DNA πολυμεράση, η οποία ονομάζεται **τελομεράση (telomerase)**.



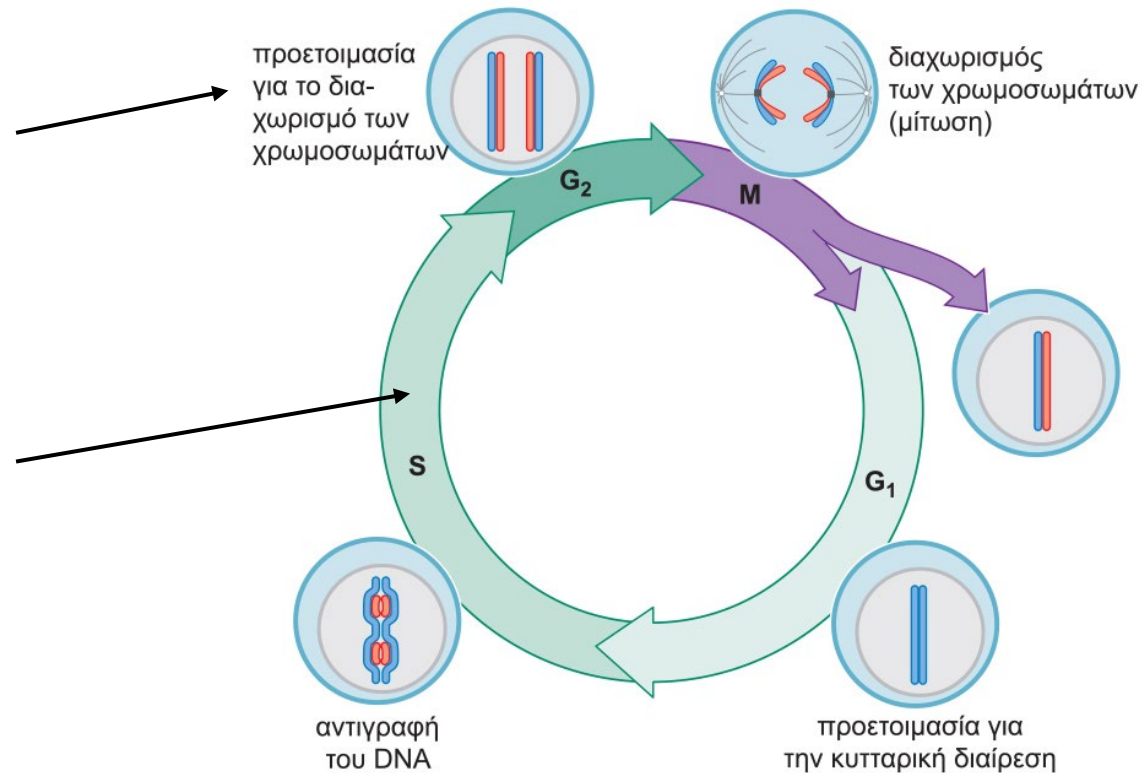
Διπλασιασμός και Διαχωρισμός των Χρωμοσωμάτων

Ο διπλασιασμός και ο διαχωρισμός των **ευκαρυωτικών** χρωμοσωμάτων γίνεται σε διαφορετικές φάσεις του κυτταρικού κύκλου.

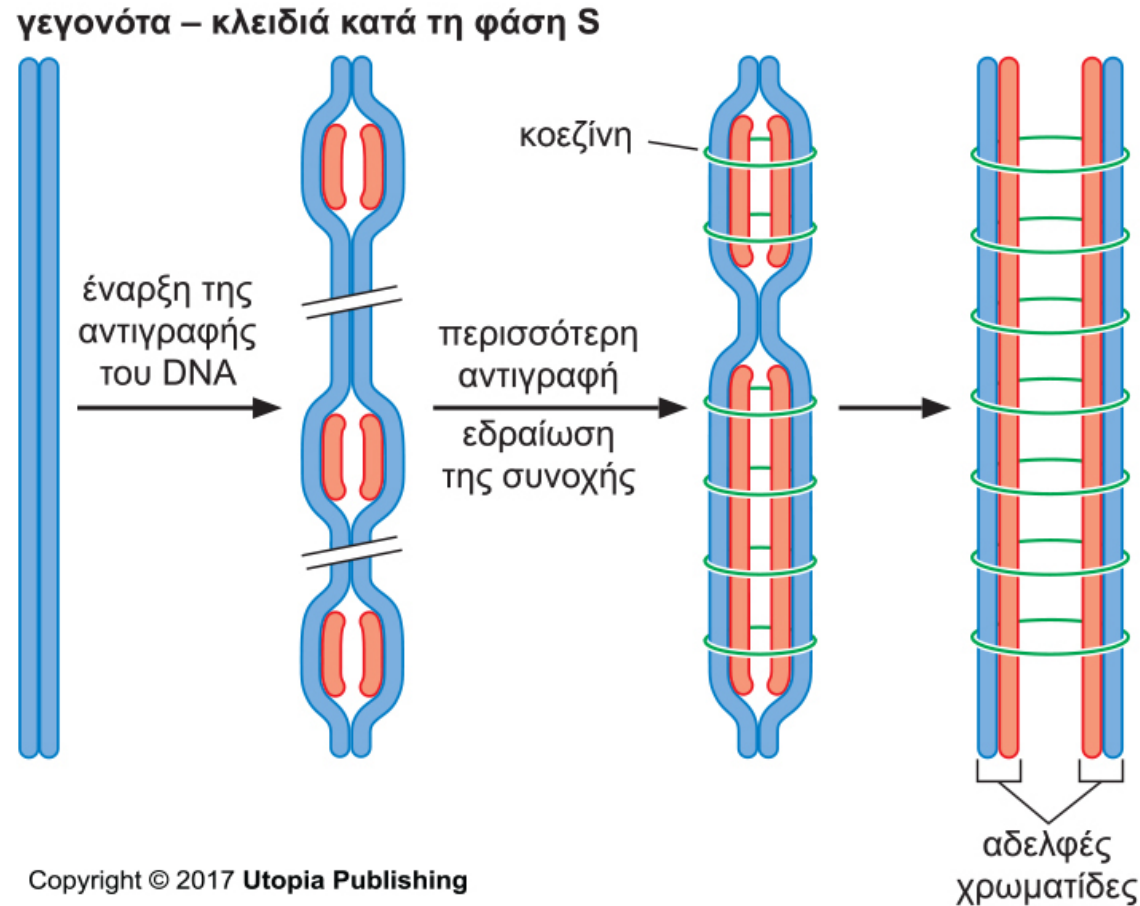
Οι περισσότερες ευκαρυωτικές κυτταρικές διαιρέσεις διατηρούν τον αριθμό των χρωμοσωμάτων του μητρικού κυττάρου και στα θυγατρικά. Αυτός ο τύπος διαίρεσης ονομάζεται **μιτωτική κυτταρική διαίρεση (mitotic cell division)**.

Έλεγχος αντιγραφής
Επιδιόρθωση λαθών
Προετοιμασία για διαίρεση

Διπλασιασμός DNA
ΟΧΙ διαχωρισμός



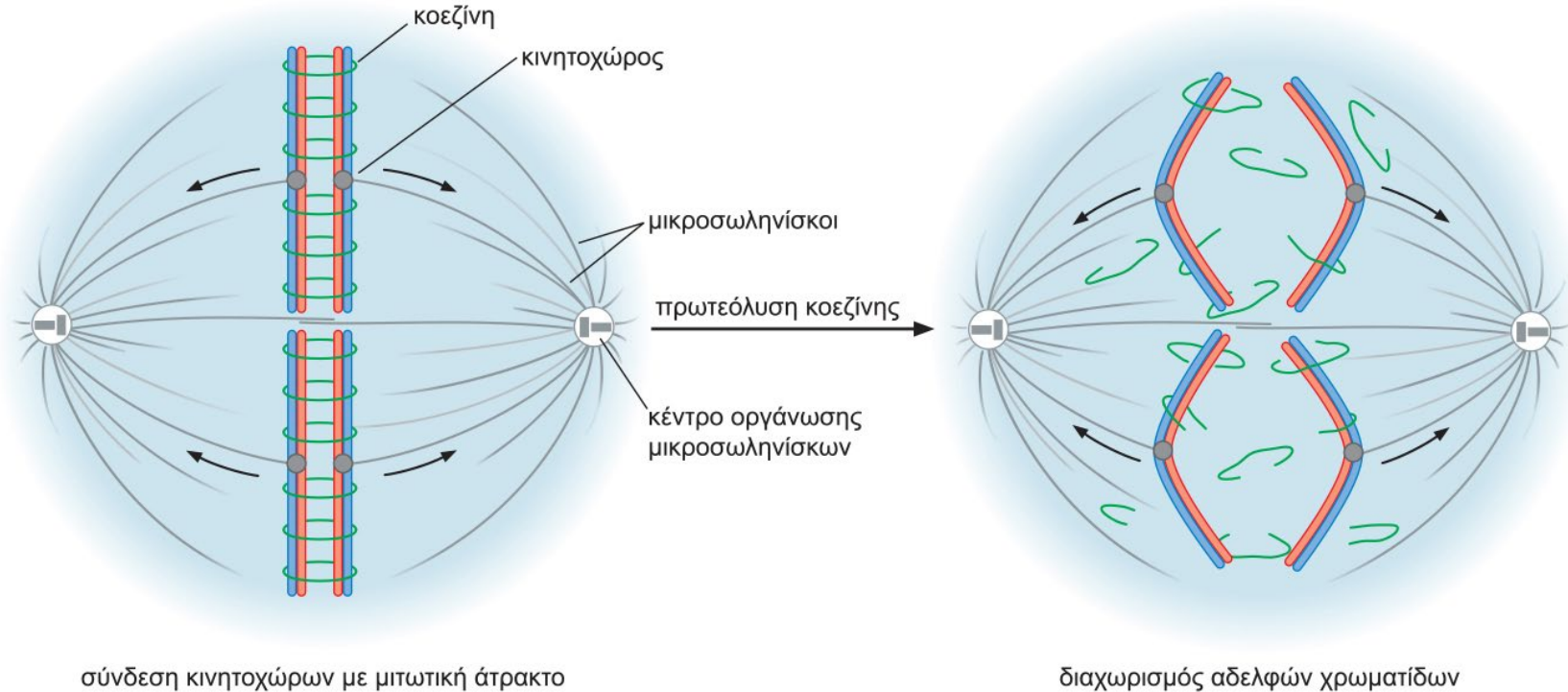
Διπλασιασμός και Διαχωρισμός των Χρωμοσωμάτων



1. Η αντιγραφή του DNA διπλασιάζει πλήρως κάθε χρωμόσωμα.
2. Λίγο πριν ολοκληρωθεί η αντιγραφή, επιτυγχάνεται η **συνοχή των αδελφών χρωματίδων** μέσω μορίων **κοεζίνης (cohesin)** σχήματος δακτυλίου.

Διπλασιασμός και Διαχωρισμός των Χρωμοσωμάτων

γεγονότα – κλειδιά κατά τη φάση M



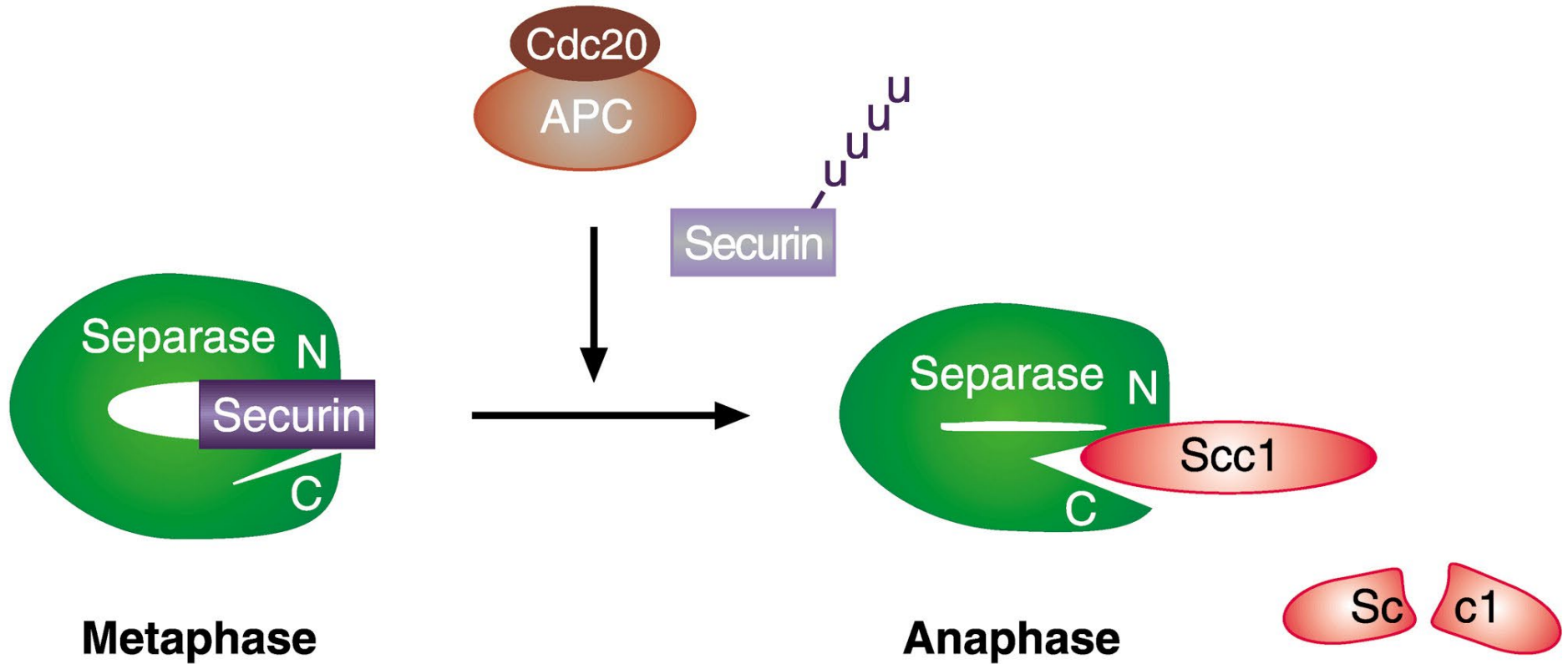
Copyright © 2017 Utopia Publishing

1. Κάθε ζεύγος αδελφών χρωματίδων είναι προσδεδεμένο σε μια δομή που ονομάζεται **μιτωτική άτρακτος (mitotic spindle)**.
2. Η συνοχή μεταξύ των χρωματίδων διαλύεται μέσω της **πρωτεόλυσης της κοεζίνης**.
3. **Διαχωρισμός των αδελφών χρωματίδων.**

Διπλασιασμός και Διαχωρισμός των Χρωμοσωμάτων

- Η **cohesin** είναι ένα πρωτεϊνικό σύμπλεγμα σε σχήμα δακτυλίου που συγκρατεί τις αδελφές χρωματίδες μαζί, ενώ η **separase** είναι ένα ένζυμο που οδηγεί στην πρωτεόλυσή της, ώστε να επιτραπεί η ομαλή διαίρεση των χρωμοσωμάτων κατά τη μίτωση.
- Στην αρχή της μίτωσης, η **separase** βρίσκεται σε απενεργοποιημένη μορφή από μια άλλη πρωτεΐνη που λέγεται **σεκιουρίνη (securin)**.
- Όταν όλα τα χρωμοσώματα συνδεθούν σωστά με την άτρακτο και «περάσουν» τον έλεγχο του κυττάρου (**spindle checkpoint**), ενεργοποιείται ένα σύμπλοκο που ονομάζεται **APC/C** (Anaphase-Promoting Complex / Cyclosome).
- Το **APC/C** προκαλεί την **ουβικουιτινίωση** και αποδόμηση της **σεκιουρίνης**.
- Η **separase** απελευθερώνεται και ενεργοποιείται.
- Η ενεργή **separase** κόβει μια υπομονάδα της κοεζίνης που λέγεται Scc1 (ή Rad21).
- Οι αδελφές χρωματίδες χωρίζονται και κατευθύνονται προς τα δύο άκρα του κυττάρου (άναφαση).

Διπλασιασμός και Διαχωρισμός των Χρωμοσωμάτων



Το νουκλεόσωμα

Οι δομικές μονάδες των χρωμοσωμάτων

α

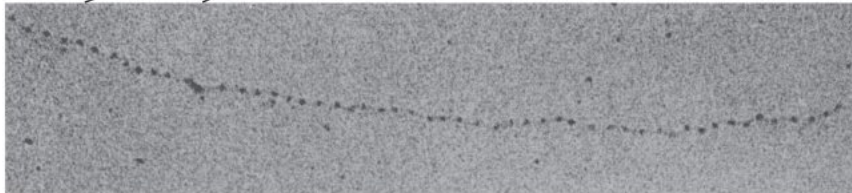
μεσόφαση



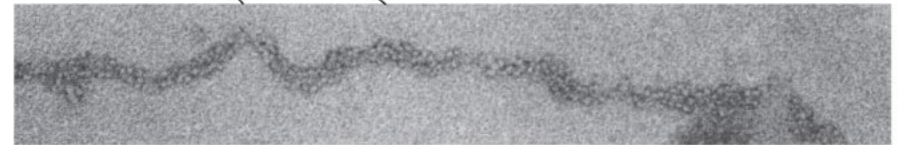
φάση M



β



ίνα 10-nm

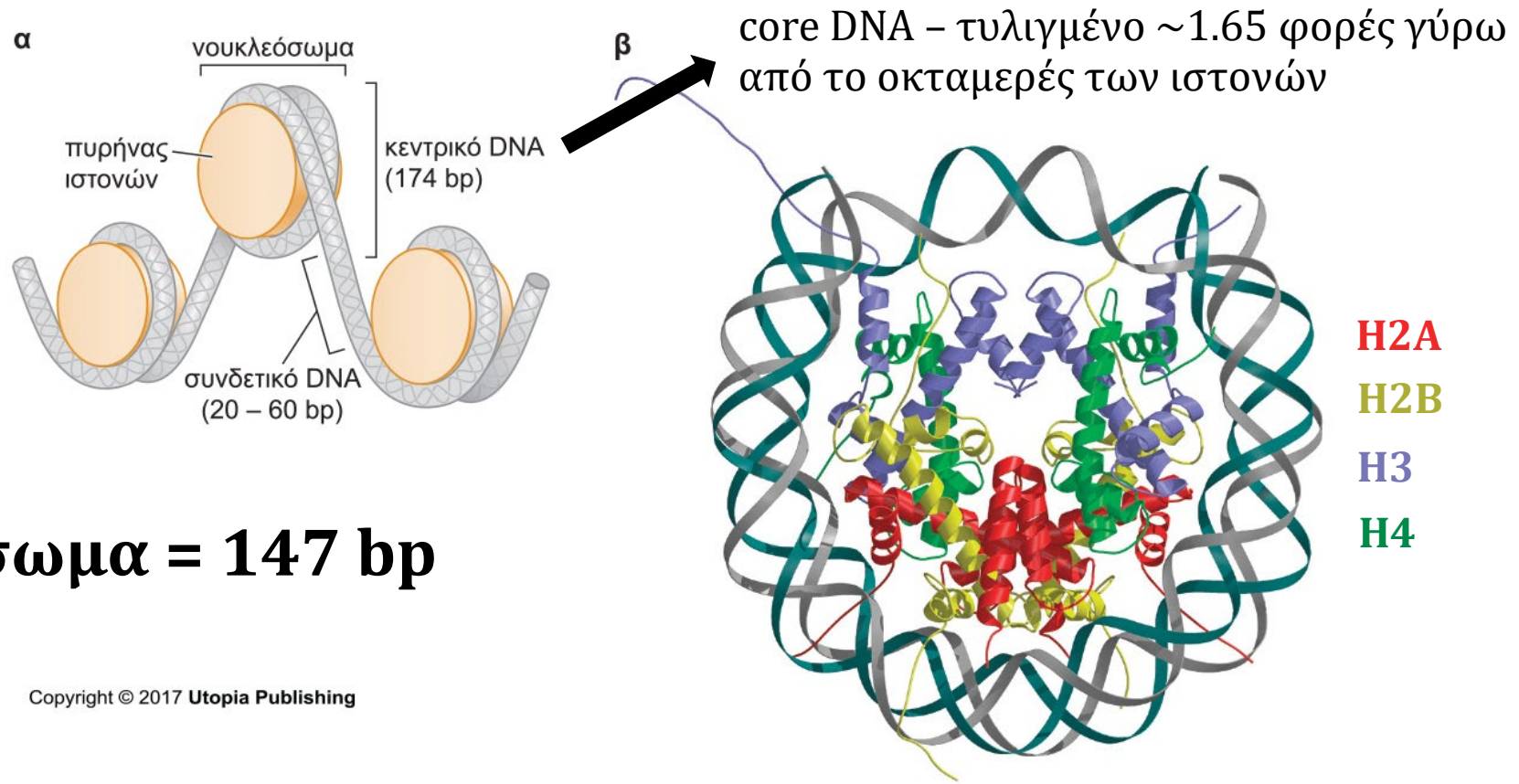


ίνα 30-nm

Το νουκλεόσωμα

Αποτελείται από ένα «πυρήνα» οκτώ ιστονών πρωτεϊνών και το DNA που τυλίγεται γύρω απ' αυτές.

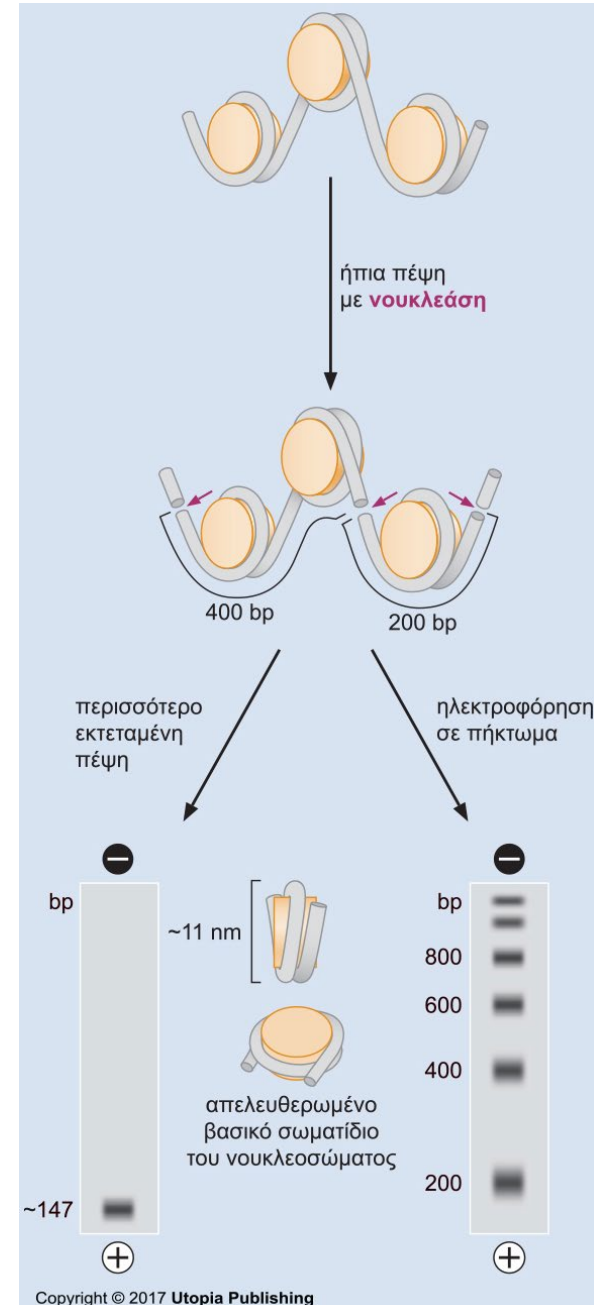
- Το DNA μεταξύ δύο νουκλεοσωμάτων καλείται **συνδετικό DNA (linker DNA)**.
- Η δομή των νουκλεοσωμάτων καθιστά το DNA συμπαγέστερο κατά 6 φορές, ωστόσο αυτό απέχει πολύ από τη συσπείρωση κατά 1.000-10.000 φορές που παρατηρείται στους ευκαρυώτες.



Νουκλεόσωμα = 147 bp

Το νουκλεόσωμα

- Κατεργασία με μικροκοκκική νουκλεάση (micrococcal nuclease - **MNase**).
- Η ικανότητα του ενζύμου να διασπά το DNA εξαρτάται από την προσβασιμότητά του.
- Η Mnase διασπά αλληλουχίες DNA που είναι ελεύθερες από πρωτεΐνες με πολύ γρηγορότερο ρυθμό από περιοχές συνδεδεμένες με πρωτεΐνες.
- Ηλεκτροφόρηση των προϊόντων σε πήκτωμα αгарόζης μαρτυρά το μήκος των νουκλεοσωμάτων.



Το νουκλεόσωμα

Οι ιστόνες είναι μικρές, θετικά φορτισμένες πρωτεΐνες

Τύπος ιστόνης	Ιστόνη	Μοριακό βάρος (M_r)	% ποσοστό λυσίνης και αργινίνης
Κεντρικές ιστόνες	H2A	14.000	20
	H2B	13.900	22
	H3	15.400	23
	H4	11.400	24
Συνδετική ιστόνη	H1	20.800	32

Copyright © 2017 Utopia Publishing

- Οι ιστόνες είναι οι πιο άφθονες πρωτεΐνες που συνδέονται με το ευκαρυωτικό DNA.
- Οι ιστόνες **H2A, H2B, H3 και H4** ονομάζονται **κεντρικές ιστόνες (core histones)**.
- Δύο αντίγραφα καθεμίας εξ αυτών σχηματίζουν τον πρωτεϊνικό πυρήνα γύρω από τον οποία τυλίγεται το νουκλεοσωμικό DNA.
- Η **ιστόνη H1** δεν αποτελεί μέρος του πυρήνα του σωματιδίου του νουκλεοσώματος. Αντίθετα, δεσμεύεται στο συνδετικό DNA και **ονομάζεται συνδετική ιστόνη (linker histone)**.

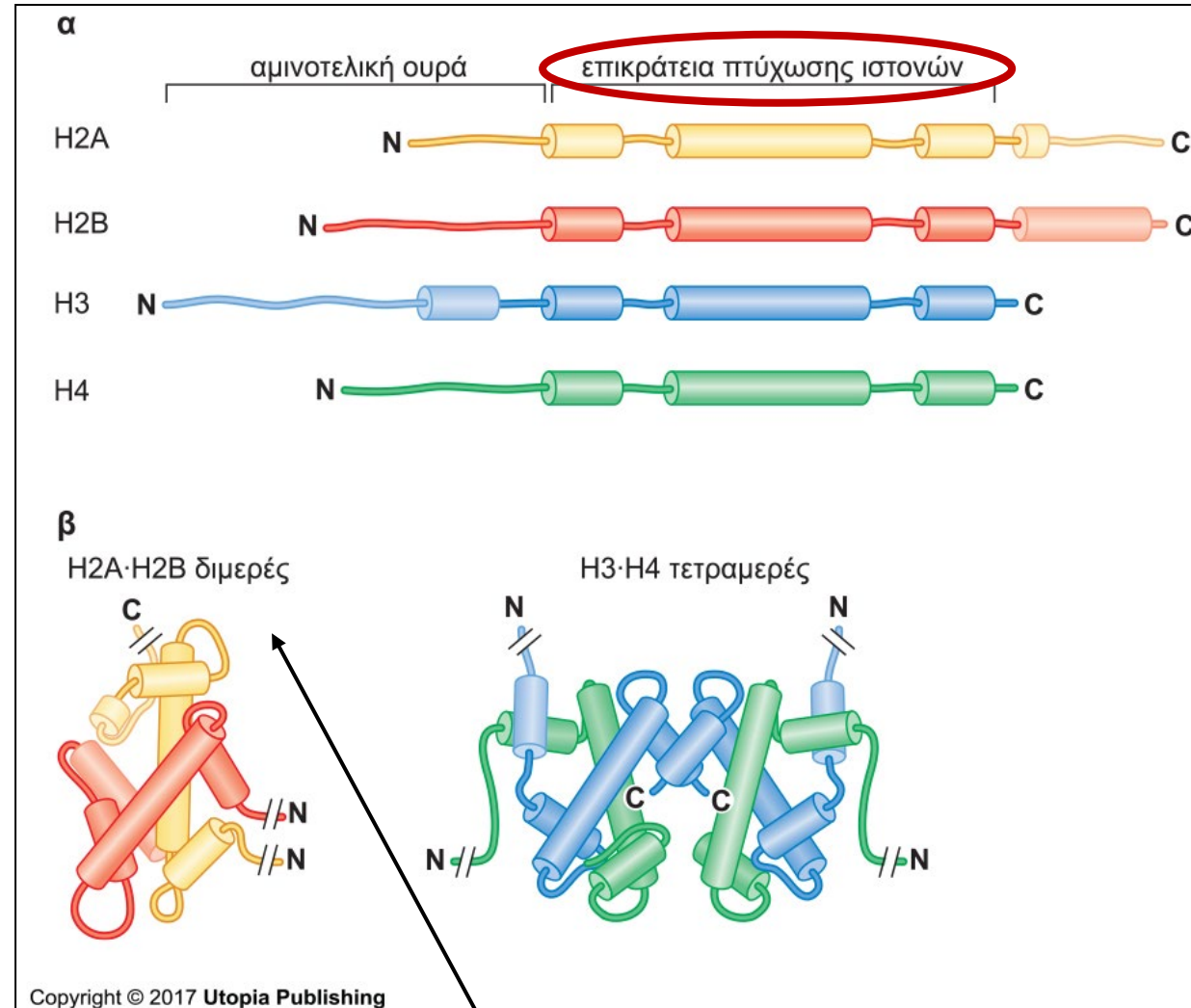
Το νουκλεόσωμα

Οι ιστόνες είναι μικρές, θετικά φορτισμένες πρωτεΐνες

- ✓ Ίσες ποσότητες στο κύτταρο.
- ✓ Σχετικά μικρές πρωτεΐνες (11-15KD).
- ✓ Έχουν υψηλό περιεχόμενο θετικά φορτισμένων αμινοξέων.
- ✓ Τουλάχιστον το 20% των αμινοξικών καταλοίπων είναι λυσίνη (K) ή αργινίνη (R).
- ✓ Η **επικράτεια πτύχωσης (histone-fold domain)** αποτελείται από **τρεις περιοχές α-έλικας** που χωρίζονται από δύο μη δομημένους βρόχους.

Για να δημιουργηθεί η δομή του νουκλεοσώματος:

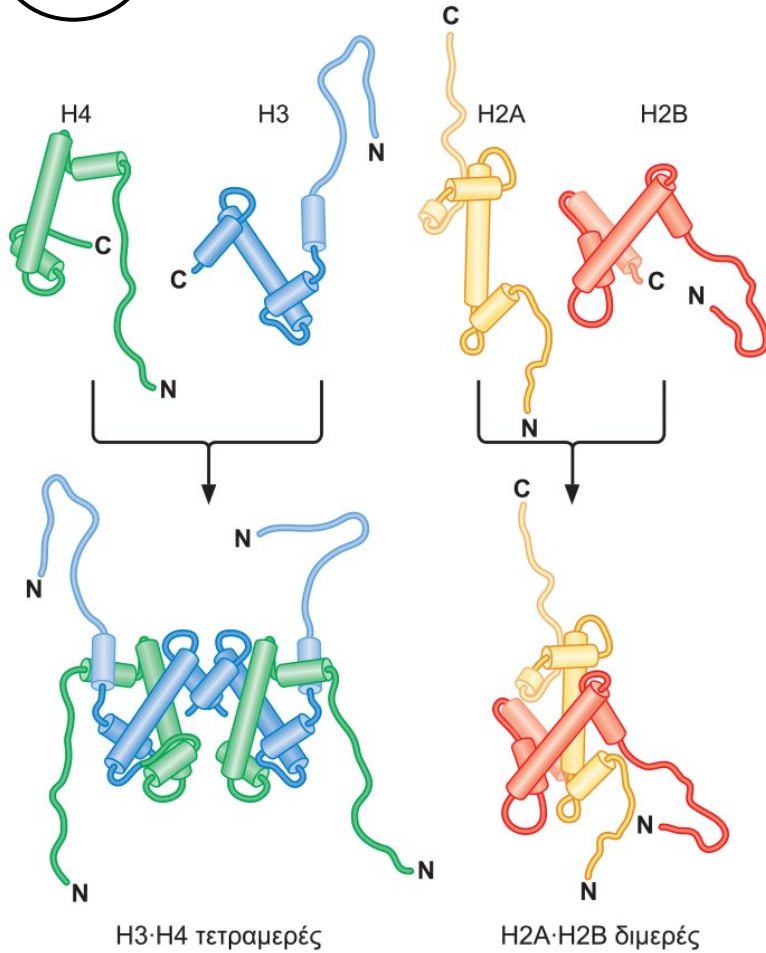
1. Το τετραμερές H3-H4 δεσμεύεται στο DNA.
2. Δύο διμερή H2A-H2B ενώνονται με το σύμπλοκο H3₂-H4₂-DNA



ΌΧΙ τετραμερές!!

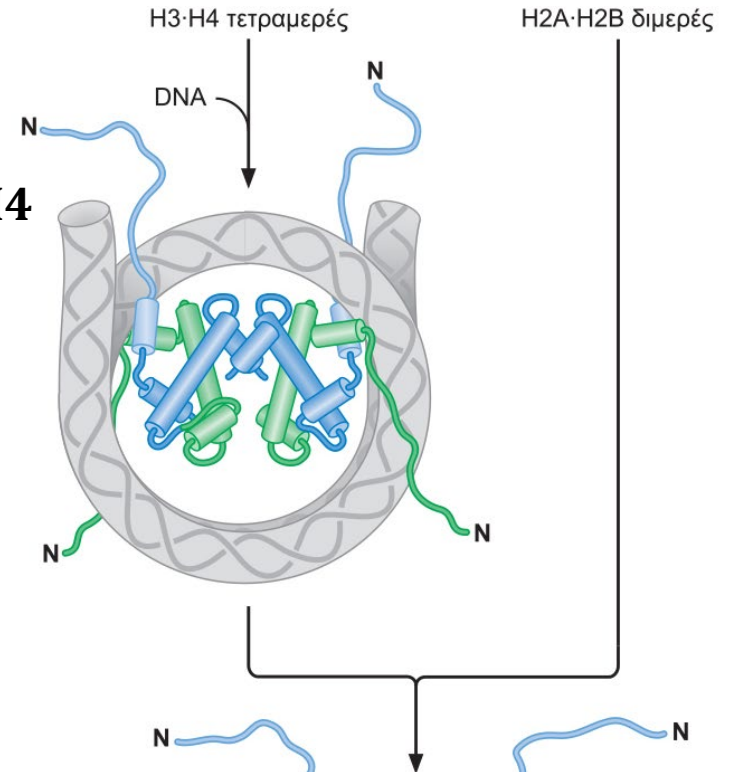
Το νουκλεόσωμα

1



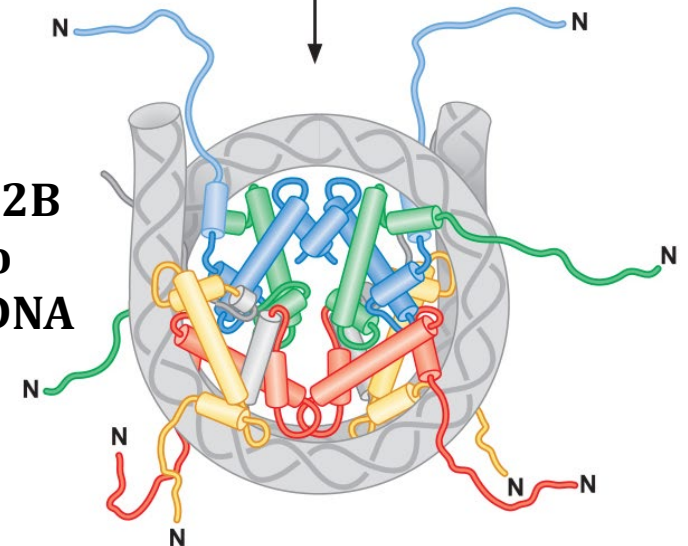
2

Πρόσδεση
τετραμερούς H3-H4
στο DNA

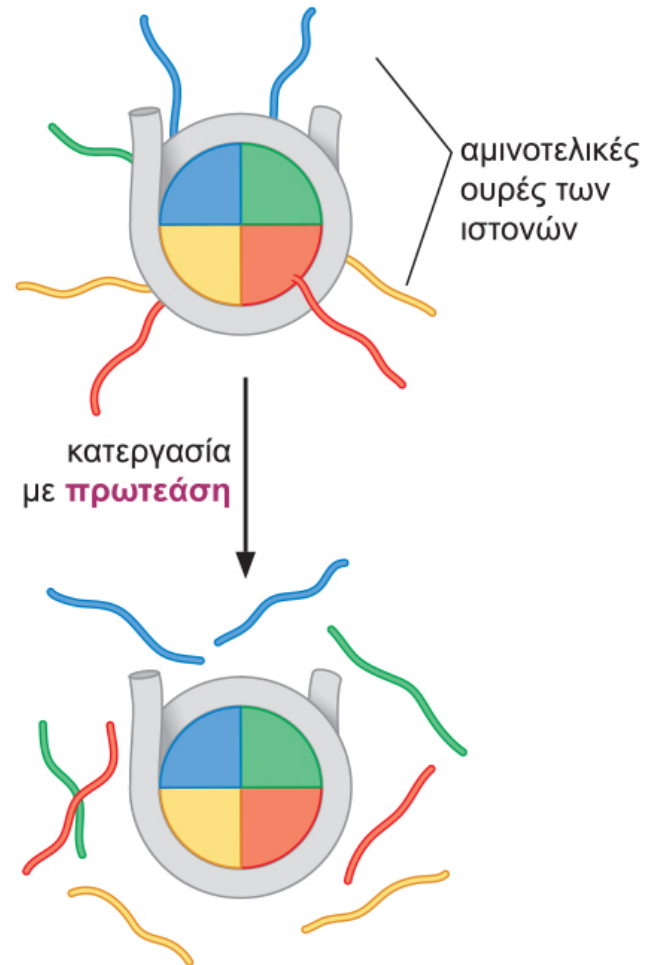
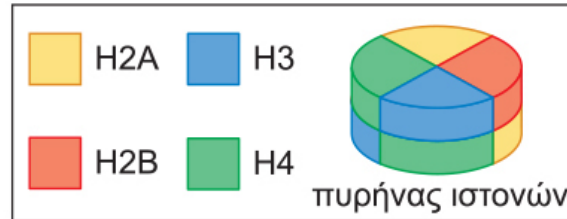


3

Δύο διμερή H2A-H2B
ενώνονται με το
σύμπλοκο H3-H4-DNA

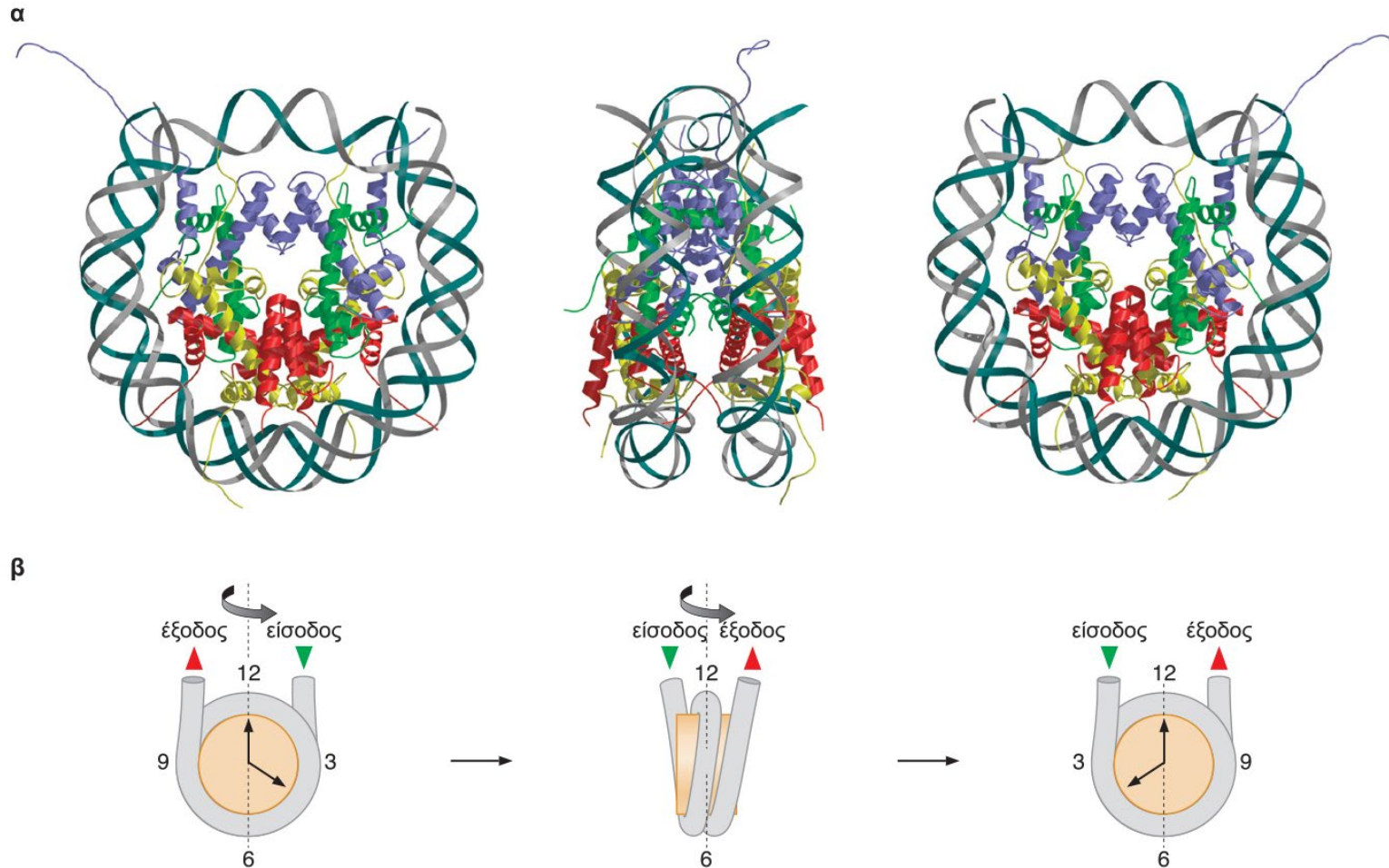


Το νουκλεόσωμα



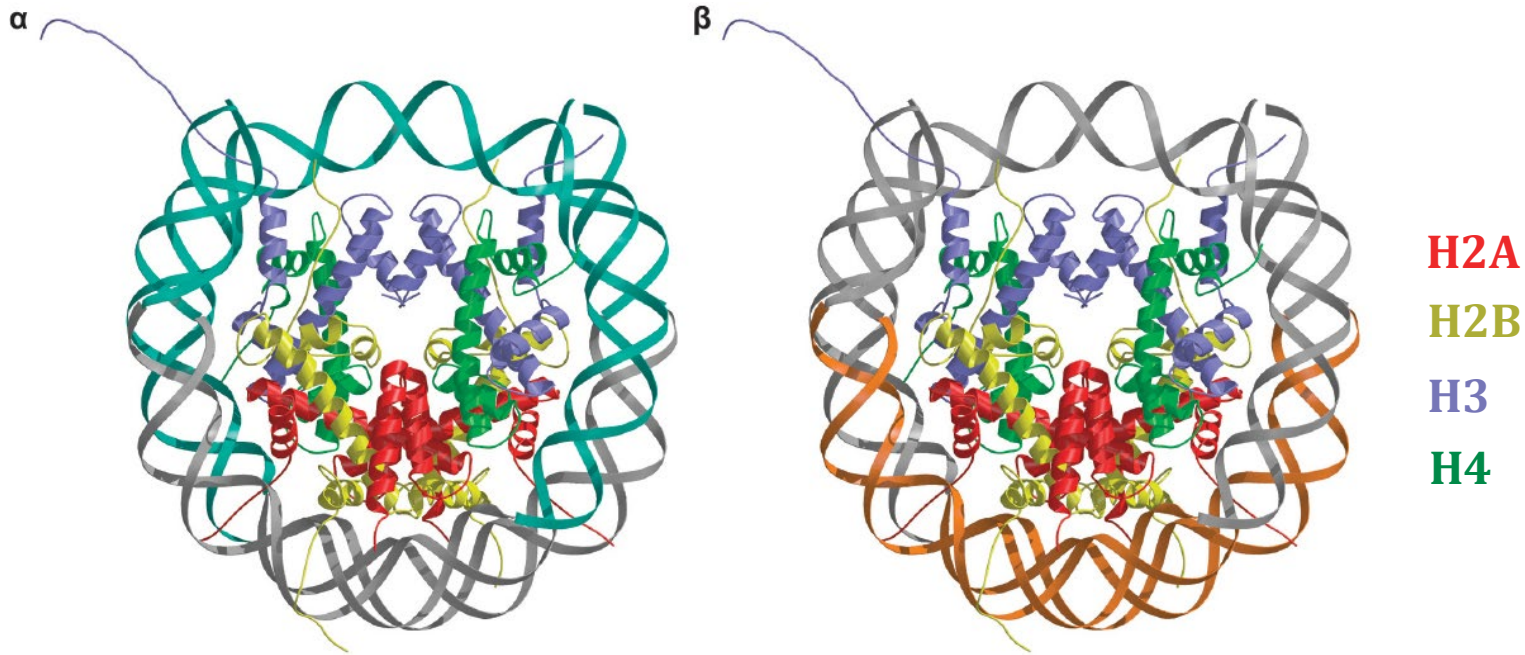
Το νουκλεόσωμα

Οι ιστόνες δεσμεύονται σε χαρακτηριστικές περιοχές του DNA εντός του νουκλεοσώματος



Διπλός άξονας συμμετρίας
(Δυαδικός άξονας - Dyad axis)

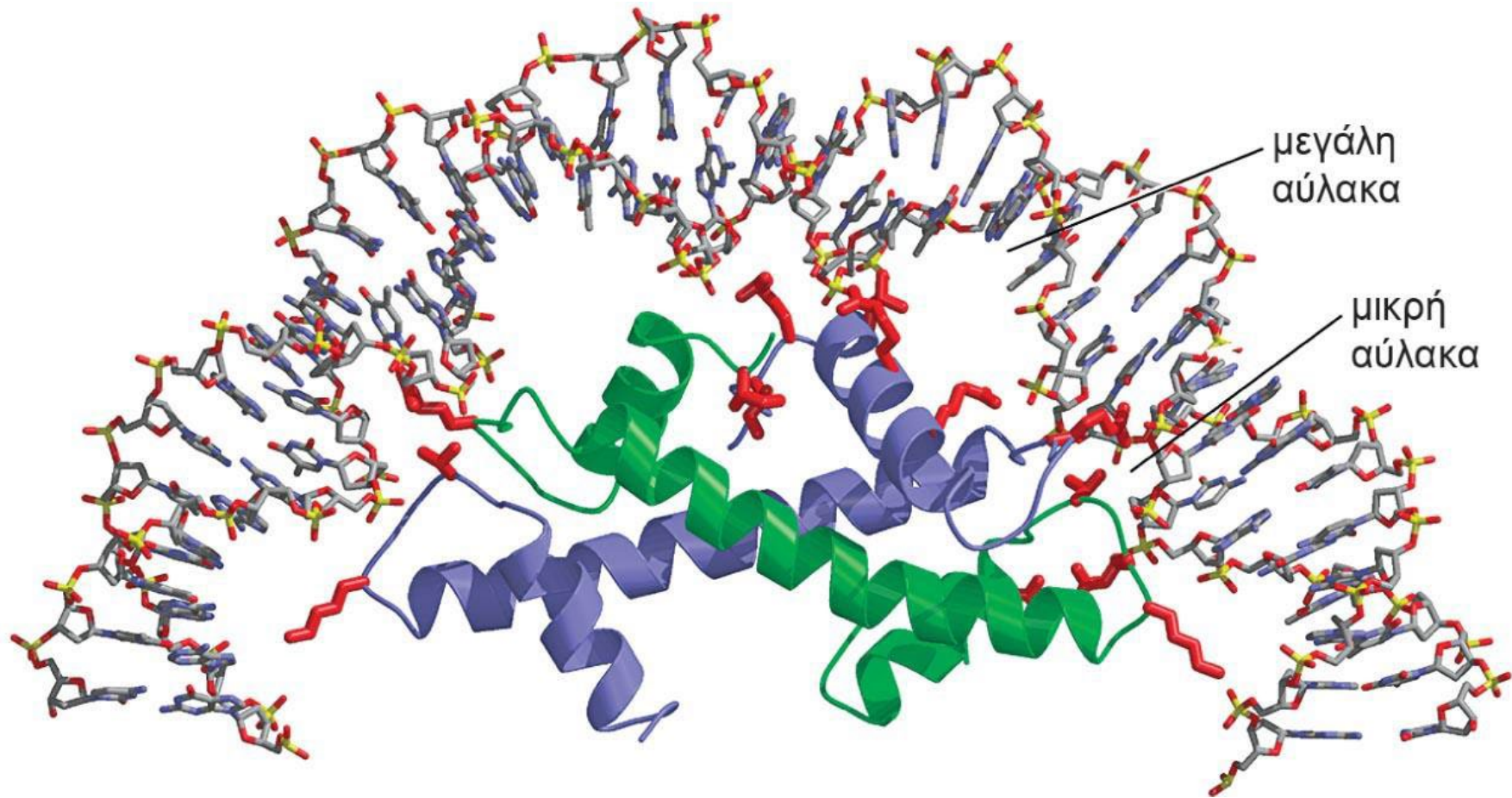
Αλληλεπίδραση ιστονών με DNA στο νουκλεόσωμα



Copyright © 2017 Utopia Publishing

- Οι περιοχές με επικράτεια πτύχωσης ιστονών του **τετραμερούς $H3_2$ - $H4_2$** αλληλεπιδρούν με το **κεντρικό τμήμα 60bp**.
- Η αμινοτελική περιοχή της **H3** σχηματίζει μια τέταρτη α-έλικα, η οποία αλληλεπιδρά με **τα τελευταία 13bp** κάθε άκρου δεσμευμένου DNA.
- Τα δύο διμερή **H2A-H2B** συνδέονται καθένα μόνο του με **~30bp DNA σε καθεμία πλευρά** του κεντρικού τμήματος των 60bp DNA που είναι δεσμευμένο από τις H3 και H4.

Το νουκλεόσωμα



- Οι ιστόνες προσδένονται στο DNA, κυρίως μέσω ηλεκτροστατικών (ιοντικών) αλληλεπιδράσεων.
- Η **ένωση του DNA με το νουκλεόσωμα** μεσολαβείται και από ένα μεγάλο αριθμό **(~40) δεσμών υδρογόνου** μεταξύ ιστονών και DNA.
- Οι περισσότεροι δεσμοί αναπτύσσονται μεταξύ των πρωτεϊνών και των ατόμων οξυγόνου στο φωσφοδιεστερικό δεσμό κοντά στη μικρή αύλακα του DNA.

Δομή Χρωματίνης Υψηλότερης Τάξης

Ετεροχρωματίνη και ευχρωματίνη

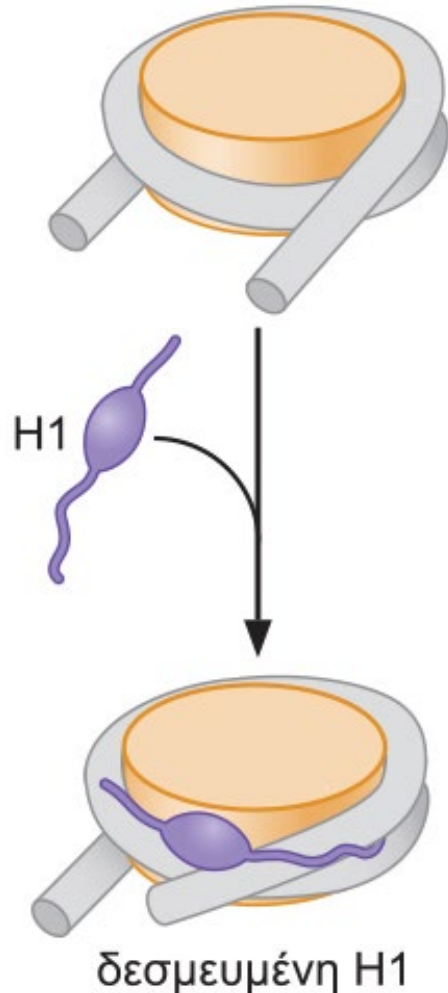
- **Ετεροχρωματίνη (heterochromatin):** Χαρακτηρίζεται από **πυκνή** χρώση με χρήση μιας ποικιλίας χρωστικών και άρα αποτελεί **συμπυκνωμένη μορφή χρωματίνης**.
- **Ευχρωματίνη (euchromatin):** Χαρακτηρίζεται από **αραιή** χρώση με χρήση μιας ποικιλίας χρωστικών και άρα αποτελεί μια σχετικά **ανοιχτή δομή χρωματίνης**.

Η διαφορά στη δομή της ετεροχρωματίνης και ευχρωματίνης έγκειται στο πως τα νουκλεοσώματα σε αυτές τις διαφορετικές χρωμοσωμικές περιοχές συγκροτούνται σε μεγαλύτερα συναθροίσματα

Ετεροχρωματίνη σχετίζεται με συγκεκριμένες χρωμοσωμικές περιοχές, συμπεριλαμβανομένων του τελομερούς και του κεντρομερούς και είναι σημαντική για τη λειτουργία τους.

Δομή Χρωματίνης Υψηλότερης Τάξης

Η ιστόνη H1 δεσμεύεται στο συνδετικό DNA μεταξύ των νουκλεοσωμάτων

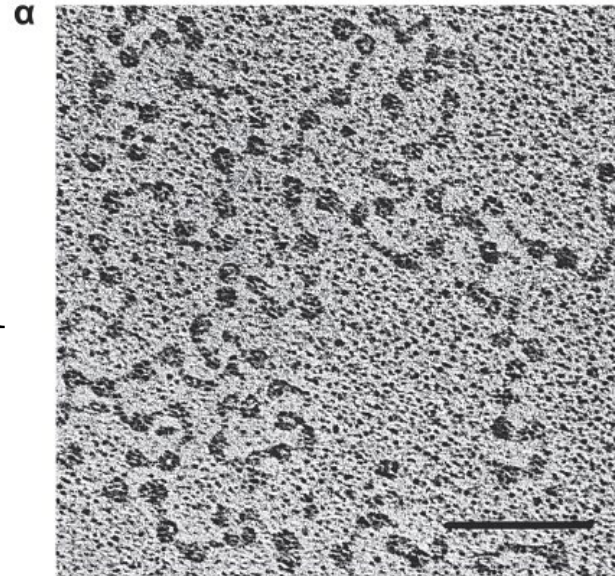


- Μόλις σχηματιστούν τα νουκλεοσώματα, επόμενο βήμα είναι η δέσμευση της H1.
- Η H1 αλληλεπιδρά με το συνδετικό DNA μεταξύ των νουκλεοσωμάτων.
- Οι θέσεις δέσμευσης της H1 εδράζονται ασύμμετρα σε σχέση με το νουκλεόσωμα.
- Η πρώτη θέση δέσμευσης είναι το **συνδετικό DNA** στο άκρο του νουκλεοσώματος.
- Η δεύτερη θέση δέσμευσης είναι το **μέσο των 147 bp του νουκλεοσώματος**.

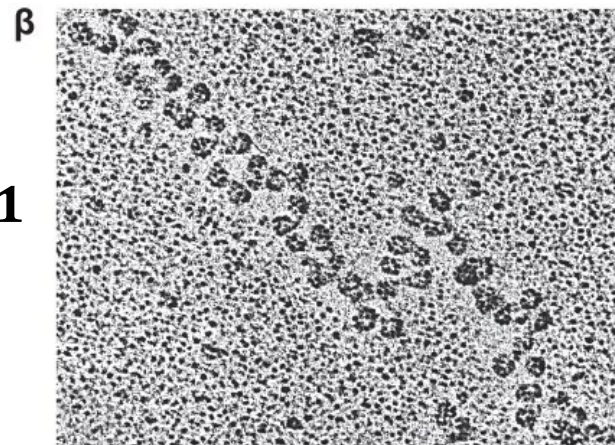
Δομή Χρωματίνης Υψηλότερης Τάξης

Νουκλεοσωματικό DNA

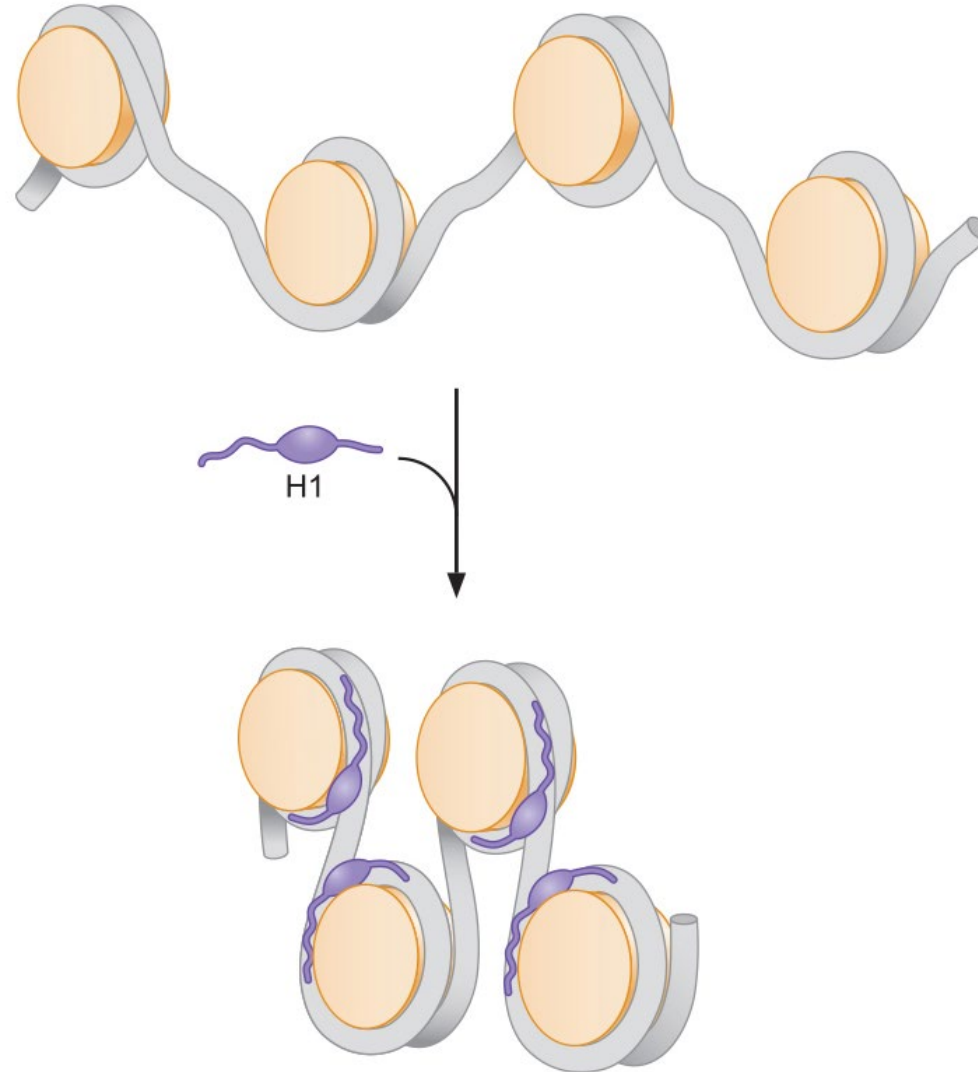
Απουσία H1



Παρουσία H1



Δομή Χρωματίνης Υψηλότερης Τάξης



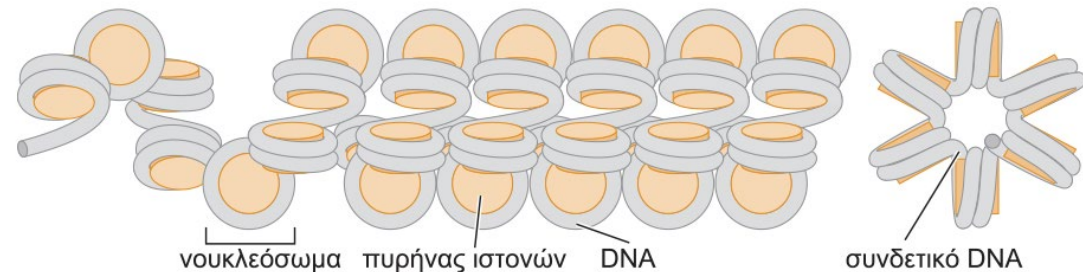
Η ίνα των 30 nm

- Η **προσθήκη της ιστόνης H1** σταθεροποιεί της **δομές χρωματίνης ανώτερης τάξης** και έχει ως αποτέλεσμα το νουκλεοσωματικό DNA να σχηματίζει μια **ίνα 30nm**.
- Καθιστά το DNA λιγότερο προσβάσιμο.

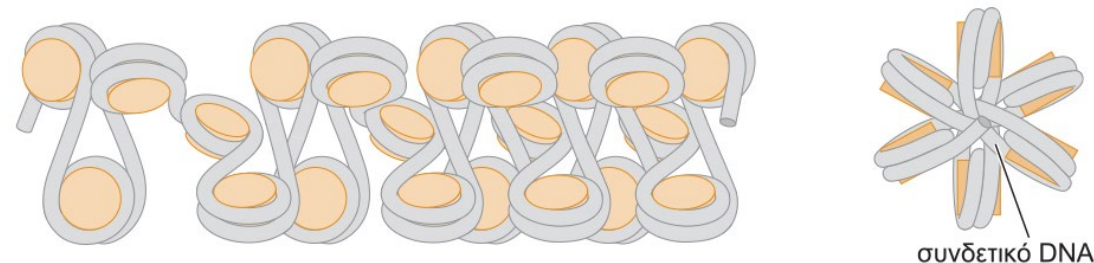
Υπάρχουν δύο μοντέλα για τη δομή της ίνας των 30nm:

1. Το μοντέλο του **σωνηνοειδούς (solenoid model)**
2. Το μοντέλο «**ζίγκ-ζάγκ**»

α σωληνοειδές

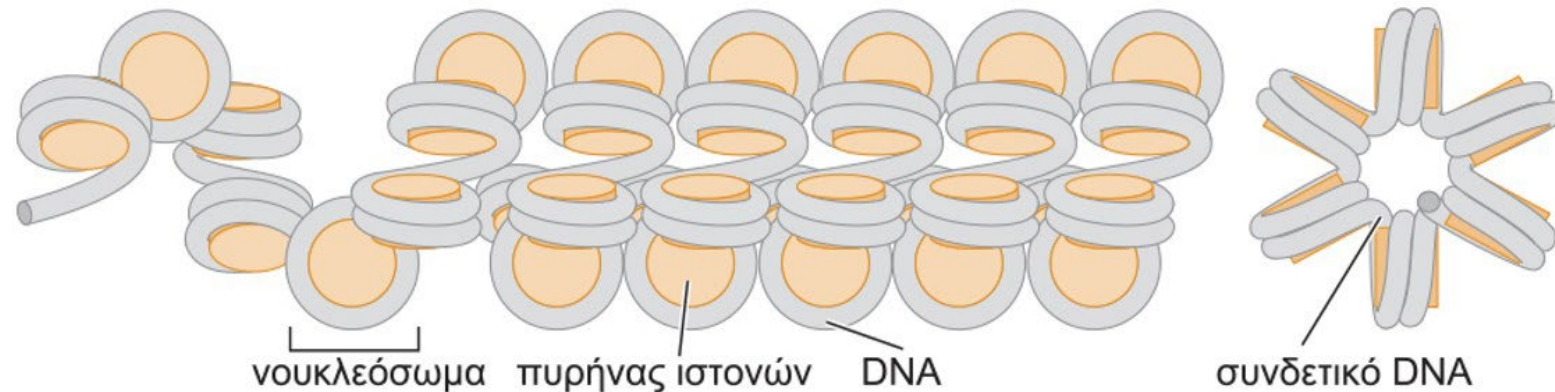


β ζιγκ – ζαγκ



Η ίνα των 30 nm: Το μοντέλο του σωληνοειδούς

α σωληνοειδές

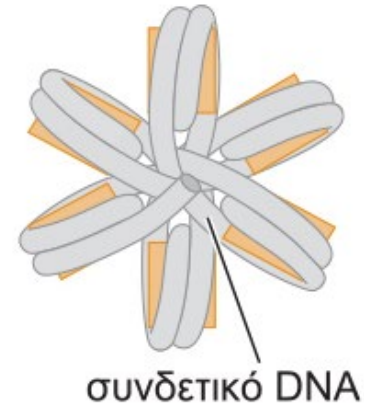
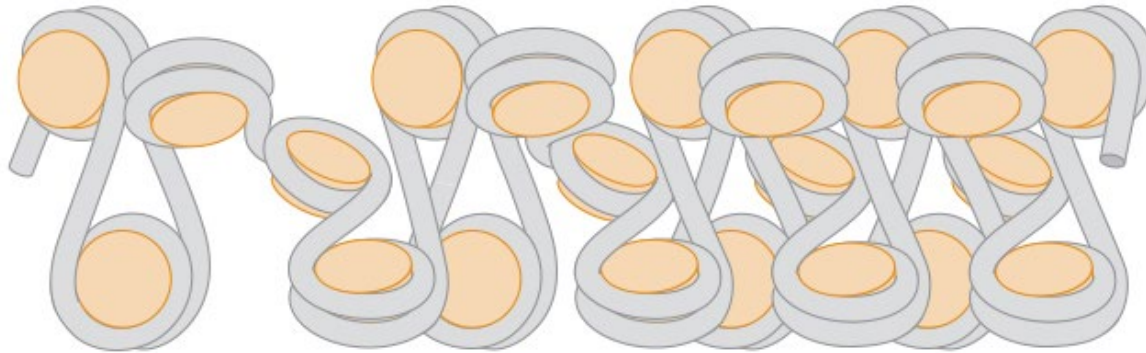


Copyright © 2017 Utopia Publishing

- Το νουκλεοσωματικό DNA σχηματίζει μια **υπερέλικά** που περιέχει περίπου **έξι νουκλεοσώματα ανά στροφή**.
- Οι επίπεδες επιφάνειες σε κάθε πλευρά του δίσκου του οκταμερούς των ιστονών είναι η μια δίπλα στην άλλη.
- Το **συνδετικό DNA βρίσκεται στο κέντρο της υπερέλικας**, αλλά δε διέρχεται ποτέ από τον άξονα της ίνας. Αντίθετα, βρίσκεται κυκλικά γύρω από τον κεντρικό άξονα καθώς το DNA κινείται από το ένα νουκλεόσωμα στο άλλο.

Η ίνα των 30 nm: Το μοντέλο «ζιγκ-ζαγκ»

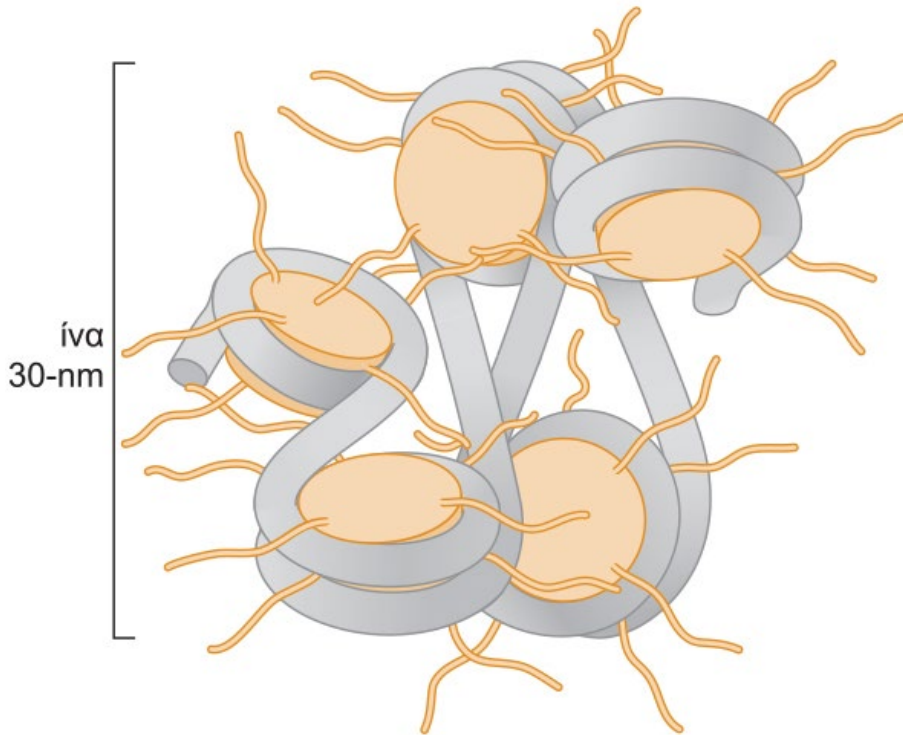
β ζιγκ – ζαγκ



Copyright © 2017 Utopia Publishing

- Συμπαγής μορφή ζιγκ-ζαγκ συστοιχιών νουκλεοσωμάτων.
- Η διαμόρφωση αυτή απαιτεί **το συνδετικό DNA να διέρχεται μέσω από τον κεντρικό άξονα της ίνας** σε μια σχετικά ευθεία μορφή.
- Συνδετικό DNA μεγαλύτερου μήκους ευνοεί αυτή τη διαμόρφωση.
- Επειδή το μέσο συνδετικό DNA ποικίλλει μεταξύ των διαφορετικών ειδών, η μορφή της ίνας 30 nm δεν είναι πάντα η ίδια και ενδέχεται και τα 2 μοντέλα να είναι σωστά.

Η ίνα των 30 nm



Copyright © 2017 Utopia Publishing

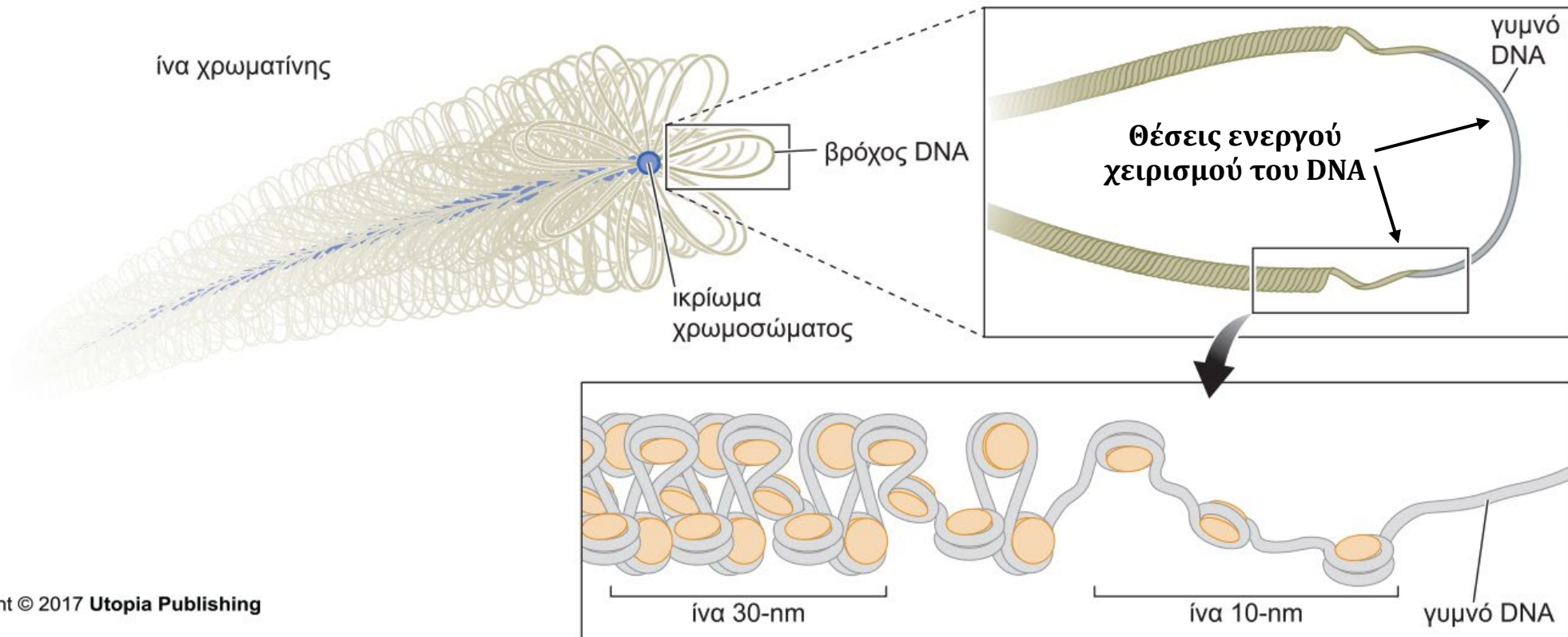
- Ο πιο πιθανός ρόλος των αμινοτελικών ουρών είναι να σταθεροποιούν την ίνα των 30 nm.
- Η αλληλεπίδραση μεταξύ του **θετικά φορτισμένου άκρου της ιστόνης H4** και μιας **αρνητικά φορτισμένης περιοχής της επικράτειας πύκνωσης της H2A** είναι κρίσιμη για το σχηματισμό της ίνας.
- Τα κατάλοιπα της H2A που αλληλεπιδρούν με την ουρά της H4 είναι συντηρημένα σε πολλούς ευκαρυώτες και δεν εμπλέκονται στη δέσμευση του DNA ή στο σχηματισμό του οκταμερούς.

- ✓ Το πακετάρισμα σε **νουκλεοσώματα** και **η ίνα των 30 nm** οδηγούν στη συμπύκνωση του γραμμικού μήκους του DNA κατά **~40 φορές**.
- ✓ Ωστόσο, αυτό δεν είναι αρκετό για να προσαρμόσει 1-2 m DNA σε ένα πυρήνα διαμέτρου $\sim 10^{-5}$ m.
- ✓ Ένα δημοφιλές μοντέλο υποστηρίζει ότι η ίνα των 30nm σχηματίζει **βρόχους 40-90kb**, οι οποίοι συγκρατούνται ενωμένοι στις βάσεις τους από μια πρωτεϊνική δομή, το **πυρηνικό ικρίωμα (nuclear scaffold)**.

Το πυρηνικό ικρίωμα (nuclear scaffold)

β

ίνα χρωματίνης



Copyright © 2017 Utopia Publishing

Έχουν αναγνωρισθεί δύο κατηγορίες πρωτεϊνών που συμβάλλουν στο **πυρηνικό ικρίωμα**:

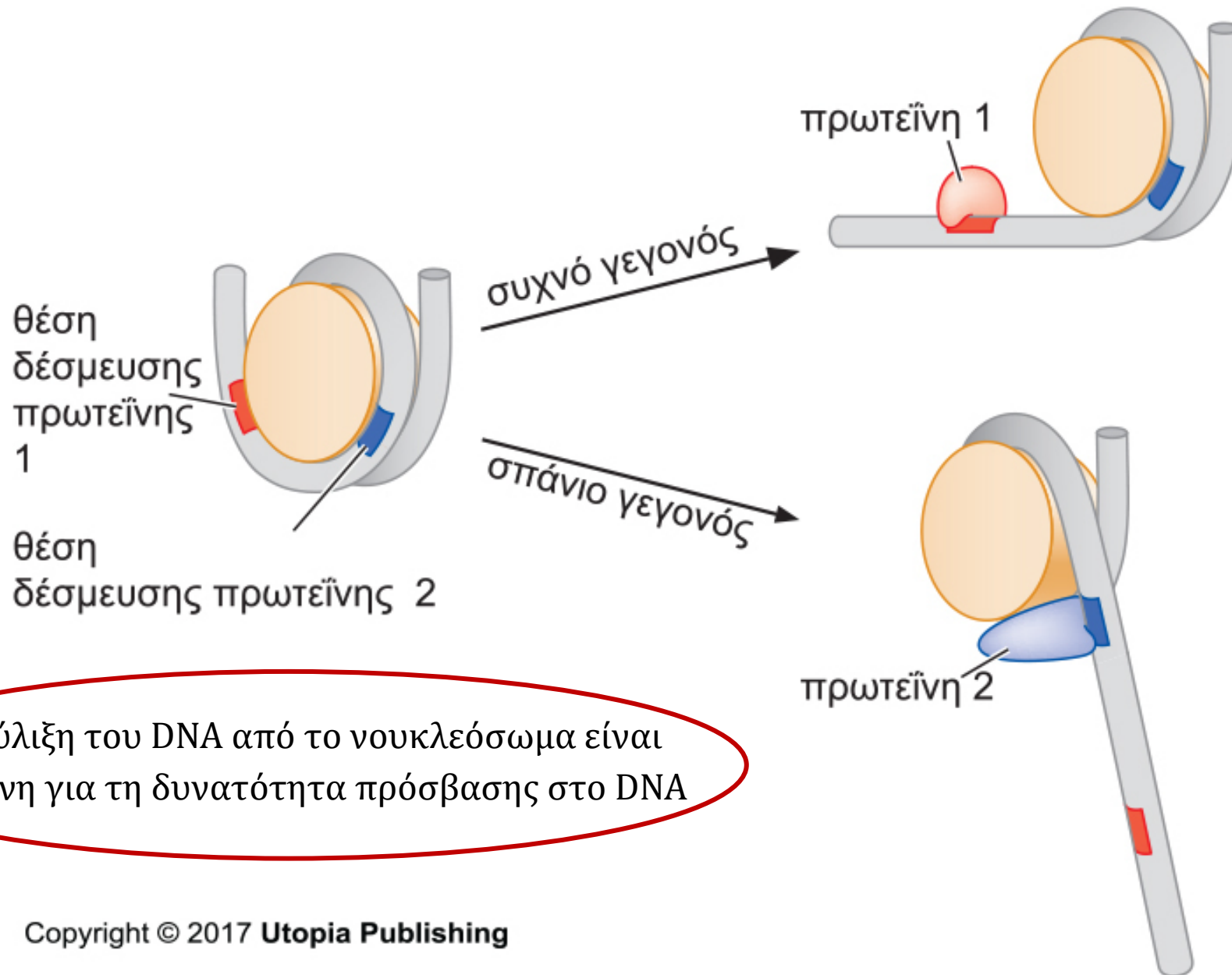
1. Η **τοποϊσομεράση II (Topo II)**

2. Οι **πρωτεΐνες SMC (Structural Maintenance of Chromosomes)**

Ρύθμιση της δομής της χρωματίνης

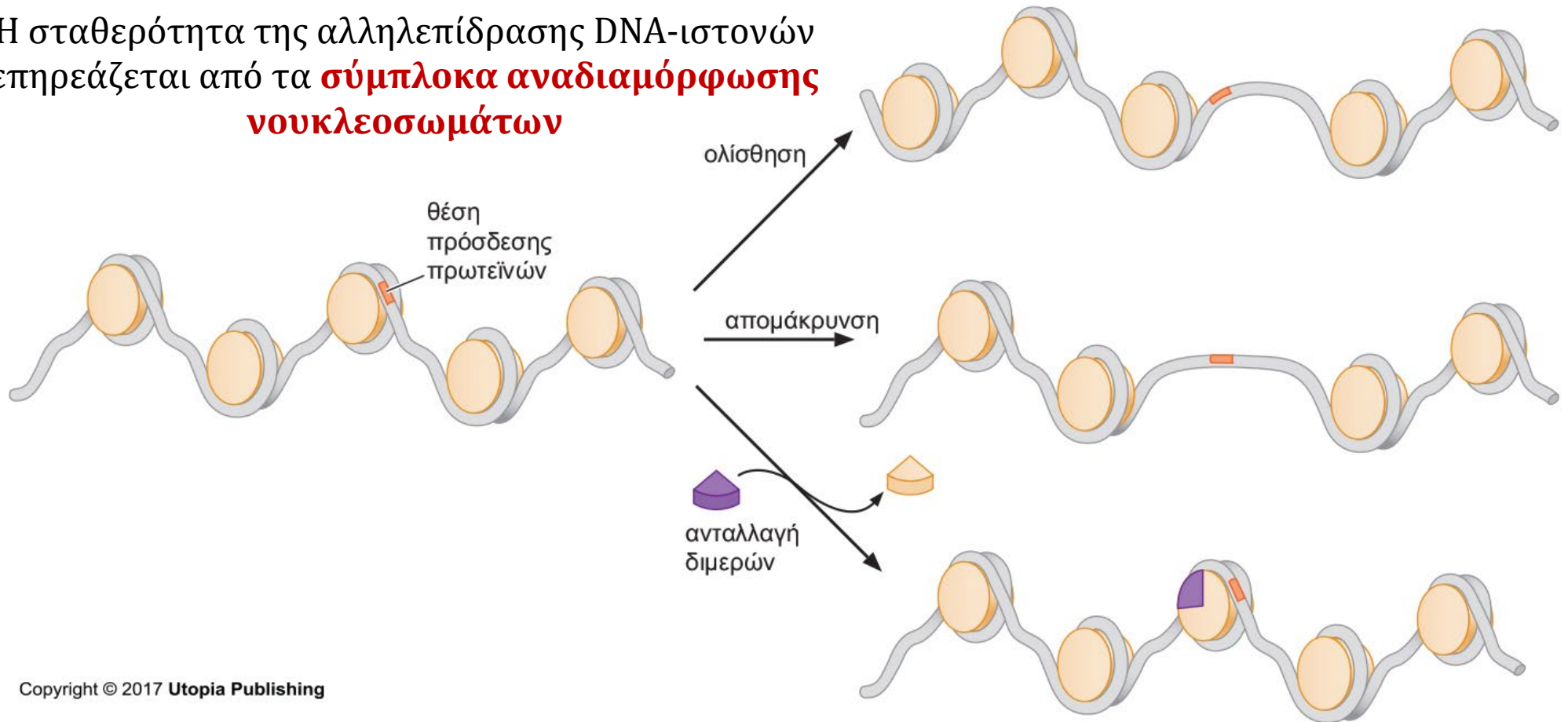
- Η αλληλεπίδραση του DNA με το οκταμερές των ιστονών είναι **δυναμική**.
- Υπάρχουν παράγοντες που επιδρούν στο νουκλεόσωμα για να αυξήσουν ή να μειώσουν τη δυναμική φύση αυτής της αλληλεπίδρασης.
- Οι ανάγκες του κυττάρου για προσβασιμότητα στο DNA είναι **μεταβαλλόμενες**.
- Πολλές πρωτεΐνες «προτιμούν» έντονα να δεσμευτούν σε περιοχές του DNA που είναι ελεύθερες από ιστόνες.
- Μια πρωτεΐνη μπορεί να αποκτήσει πρόσβαση στις θέσεις δέσμευσης επί του DNA με πιθανότητα 1:50 έως 1:100.000, ανάλογα με το που βρίσκεται η θέση δέσμευσης εντός του νουκλεοσώματος.
- Όσο κεντρικότερη είναι η θέση δέσμευσης, τόσο πιο σπάνια είναι προσβάσιμη.

Ρύθμιση της δομής της χρωματίνης



Ρύθμιση της δομής της χρωματίνης

Η σταθερότητα της αλληλεπίδρασης DNA-ιστονών επηρεάζεται από τα **σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης νουκλεοσωμάτων**



- Τα σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης νουκλεοσωμάτων (**nucleosome remodeling complexes**) διευκολύνουν αλλαγές στη θέση του νουκλεοσώματος ή την αλληλεπίδραση με το DNA χρησιμοποιώντας ενέργεια από την υδρόλυση του ATP.
- Λειτουργούν με **τρεις μηχανισμούς**.

Σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης νουκλεοσωμάτων

- Κρίσιμη για τη λειτουργία των ενζύμων αυτών είναι μια υπομονάδα **DNA τρανσλοκάσης** που **υδρολύει ATP**.
- Ο ρόλος της DNA τρανσλοκάσης είναι **κατευθυντικός**.

Τα σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης νουκλεοσωμάτων:

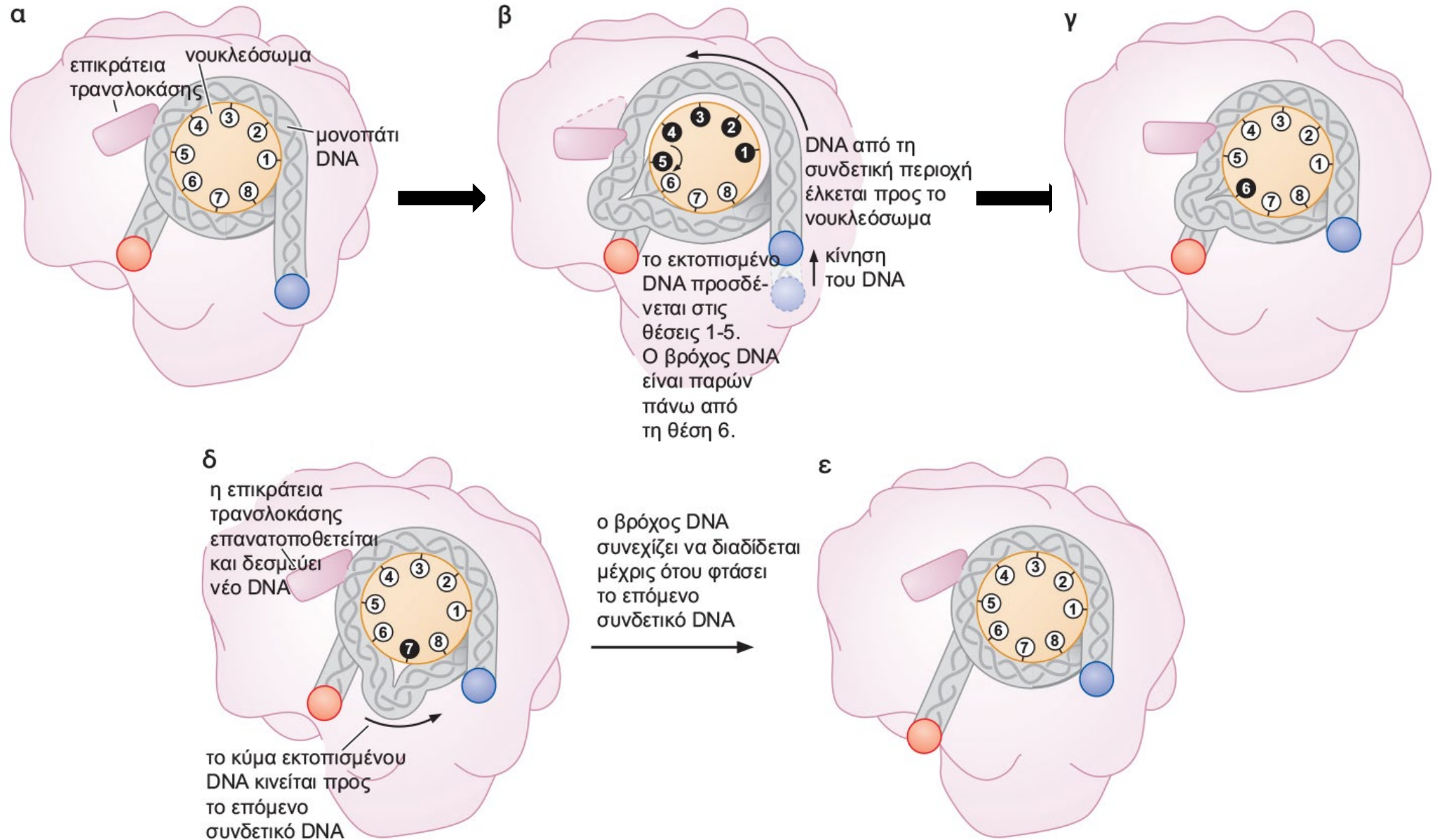
1. Δεσμεύουν ισχυρά το οκταμερές των ιστονών.
2. Τοποθετούν την υπομονάδα της DNA τρανσλοκάσης δίπλα στο νουκλεοσωματικό DNA.

Σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης νουκλεοσωμάτων εξαρτώμενα από την ATP

Τύπος	Αριθμός υπομονάδων	Επικράτειες δέσμευσης ιστονών	Ολίσθηση	Μεταφορά
SWI/SNF	8 – 11	επικράτεια bromo	Ναι	Ναι
ISWI	2 – 4	επικράτεια bromo, επικράτεια SANT, δάκτυλος PHD	Ναι	Όχι
CHD	8 – 10	επικράτεια chromo, δάκτυλος PHD	Ναι	Όχι
SWR1	12 – 14	επικράτεια bromo, επικράτεια SANT	Ναι	nd
INO80	10 – 12	Καμία	Ναι	nd

nd, μη καθορισμένο

Μοντέλο ολίσθησης νουκλεοσώματος κατά μήκος του DNA

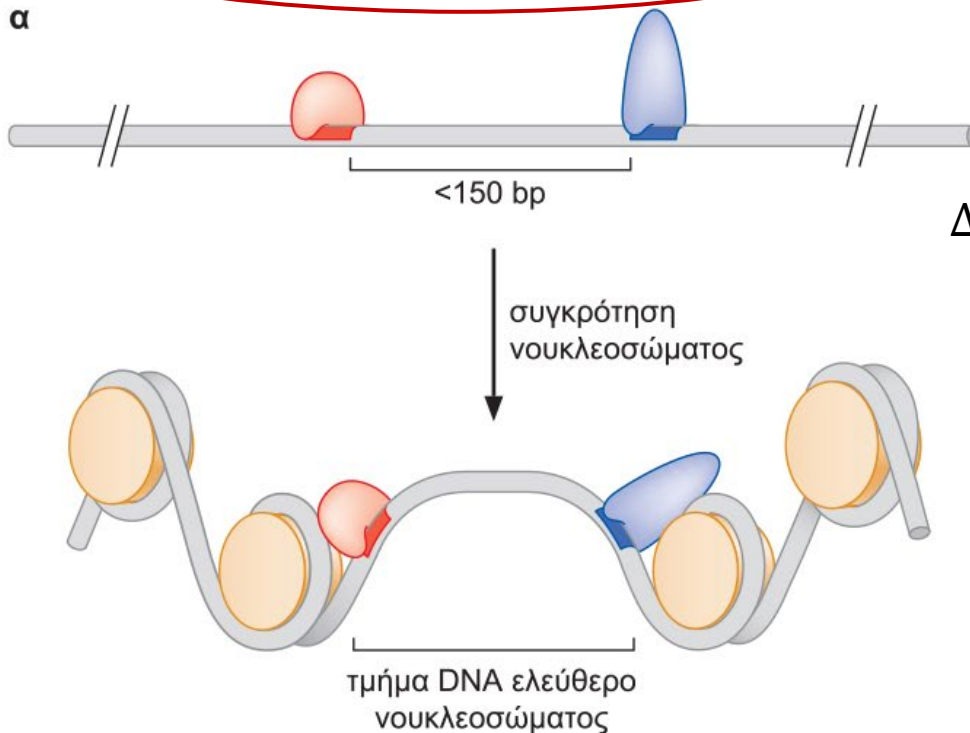


Τοποθέτηση των νουκλεοσωμάτων

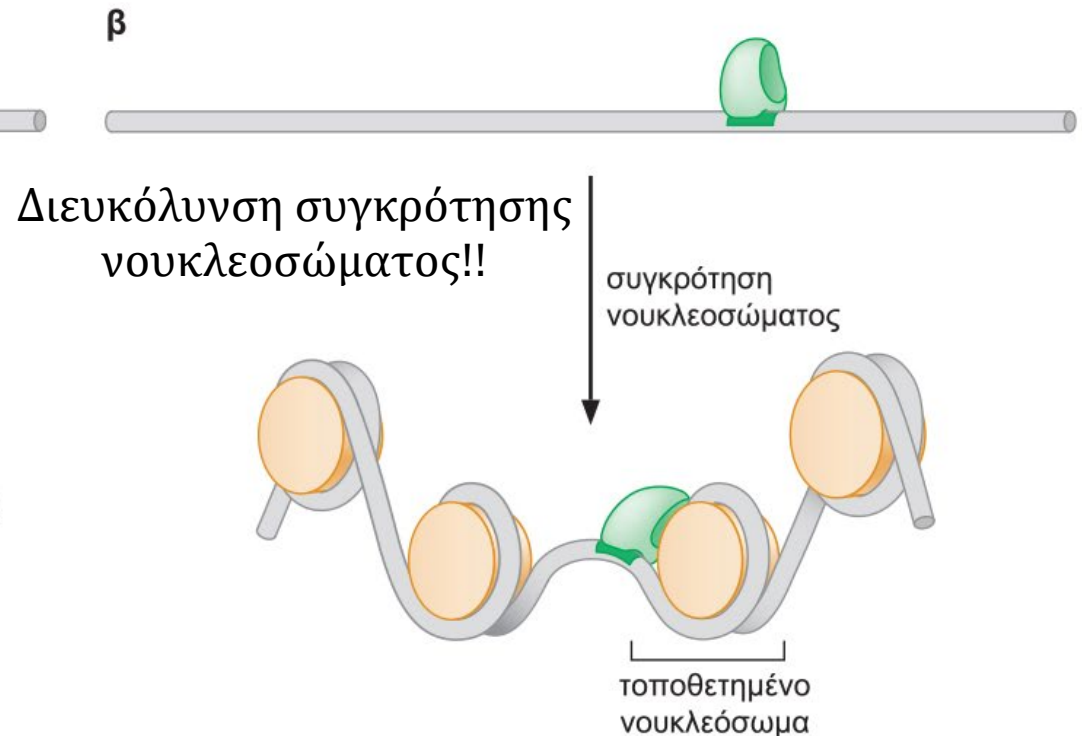
Η τοποθέτηση (positioning) των νουκλεοσωμάτων κατευθύνεται από:

1. Πρωτεΐνες που συνδέονται με το DNA
2. Συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA

Αδυναμία συγκρότησης νουκλεοσώματος
Ανταγωνισμός μεταξύ νουκλεοσωμάτων
και πρωτεϊνών δέσμευσης



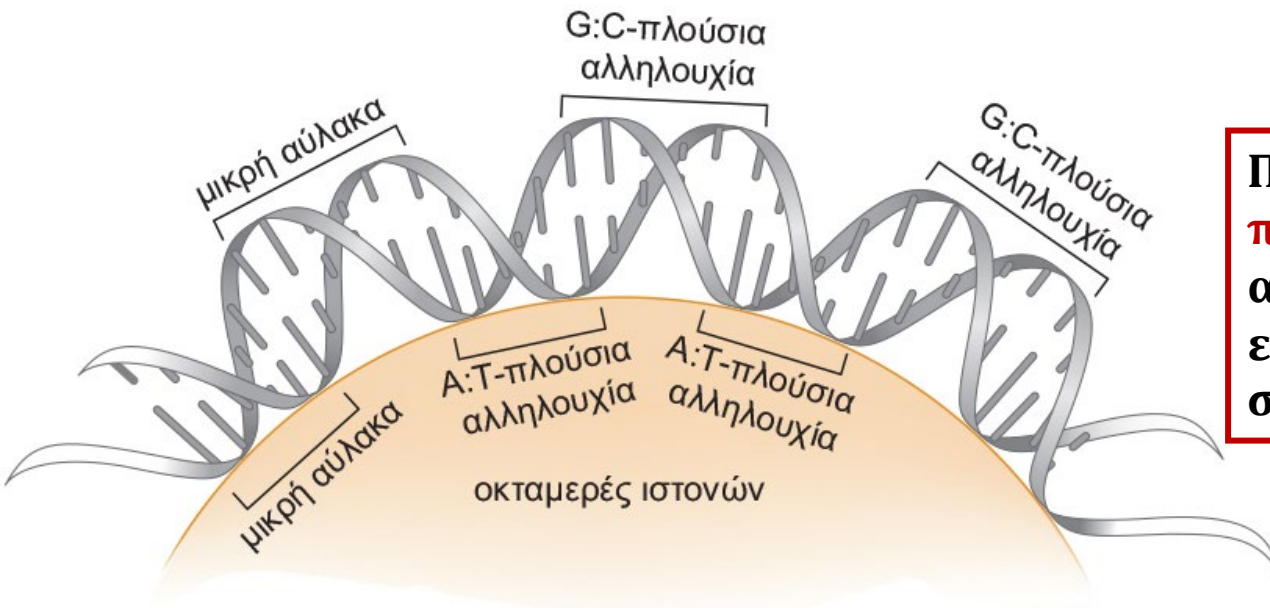
Ένα υποσύνολο πρωτεϊνών δεσμεύεται σε
νουκλεοσώματα και **διευκολύνει** τη
συγκρότησή τους



Τοποθέτηση των νουκλεοσωμάτων

Τα νουκλεοσώματα προτιμούν να δεσμεύουν DNA που κάμπτεται εύκολα

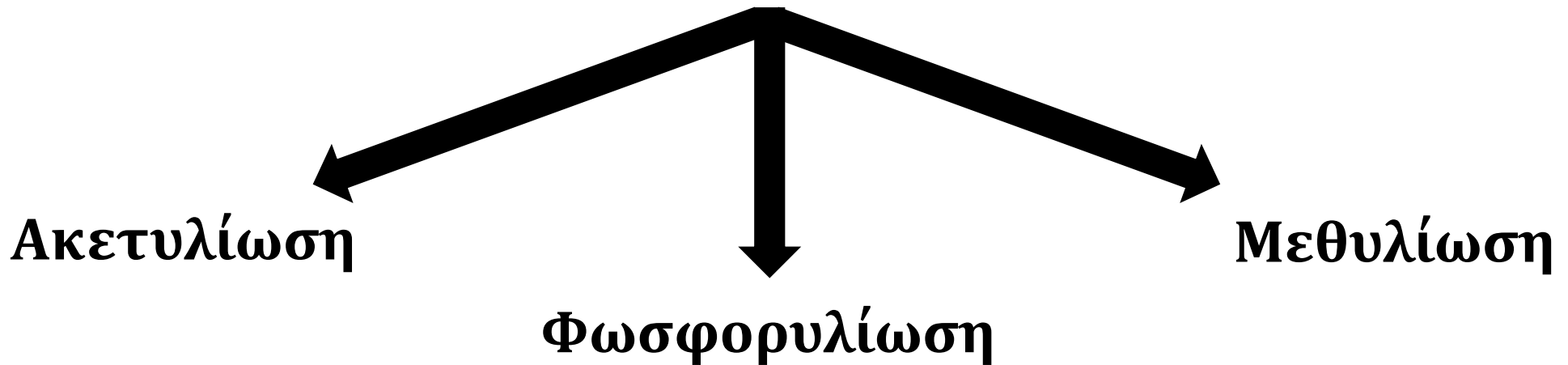
- Το **πλούσιο σε A:T** DNA έχει μια εγγενή τάση να **κάμπτεται προς τη μικρή αύλακα**. Έτσι ευνοείται σε θέσεις στις οποίες η μικρή αύλακα είναι αντιμέτωπη με το οκταμερές των ιστονών.
- Το **πλούσιο σε G:C** DNA έχει την **αντίθετη τάση** και ευνοείται όταν η μικρή αύλακα είναι στραμμένη αντίθετα σε σχέση με το οκταμερές των ιστονών.



Περιοχές που **εναλλάσσονται** μεταξύ **πλούσιων σε ζεύγη A:T και G:C** αλληλουχιών με περιοδικότητα ~5bp είναι περιοχές που **ευνοούν** τη συγκρότηση των νουκλεοσωμάτων.

Οι τροποποιήσεις των ιστονών

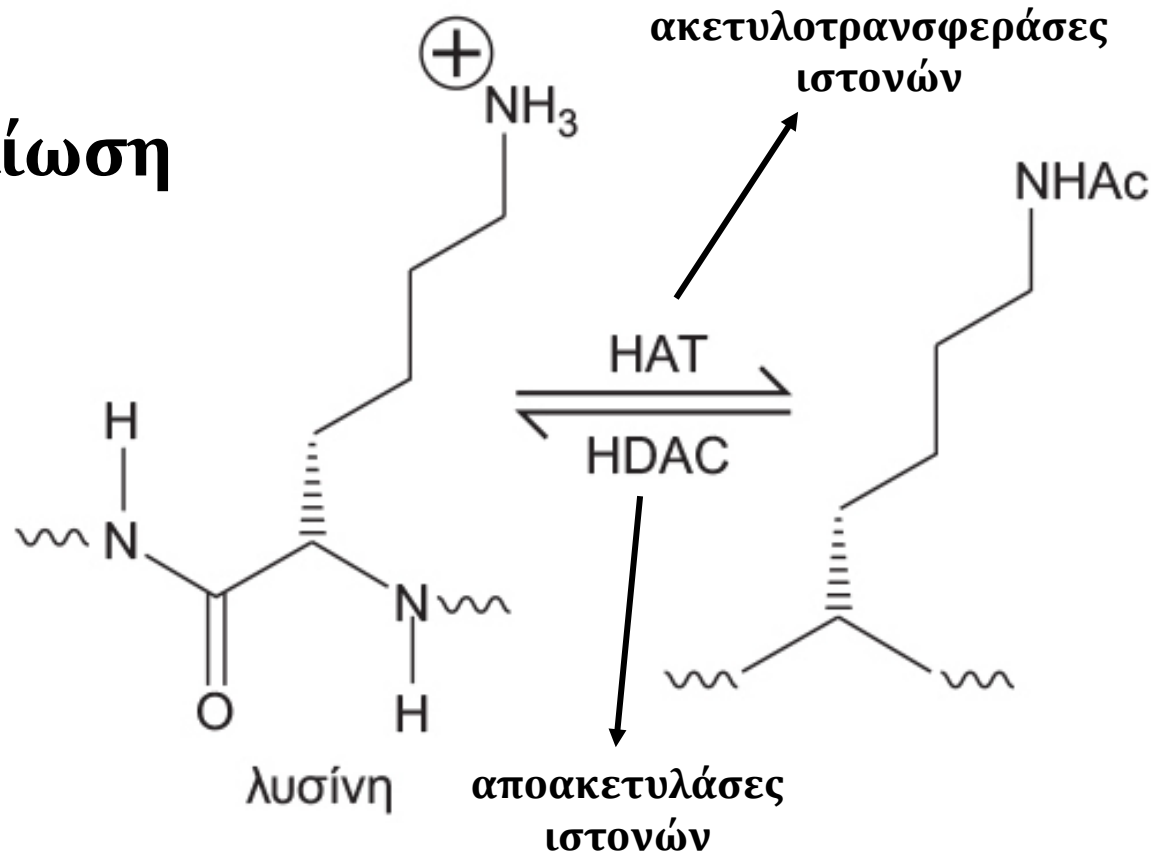
Οι τροποποιήσεις των αμινοτελικών ουρών των ιστονων αλλάζει την προσβασιμότητα της χρωματίνης



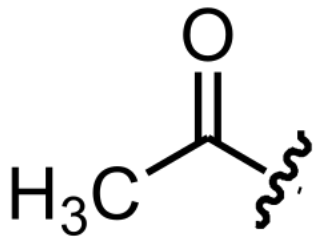
- Στις λυσίνες (K) εμφανίζονται συχνά οι τροποποιήσεις της ακετυλιώσεων και μεθυλιώσεων.
- Ομοίως οι σερίνες (S) και θρεονίνες (T) υπόκεινται σε τροποποίηση φωσφορυλίωσης.

Οι τροποποιήσεις των ιστονών

Ακετυλίωση



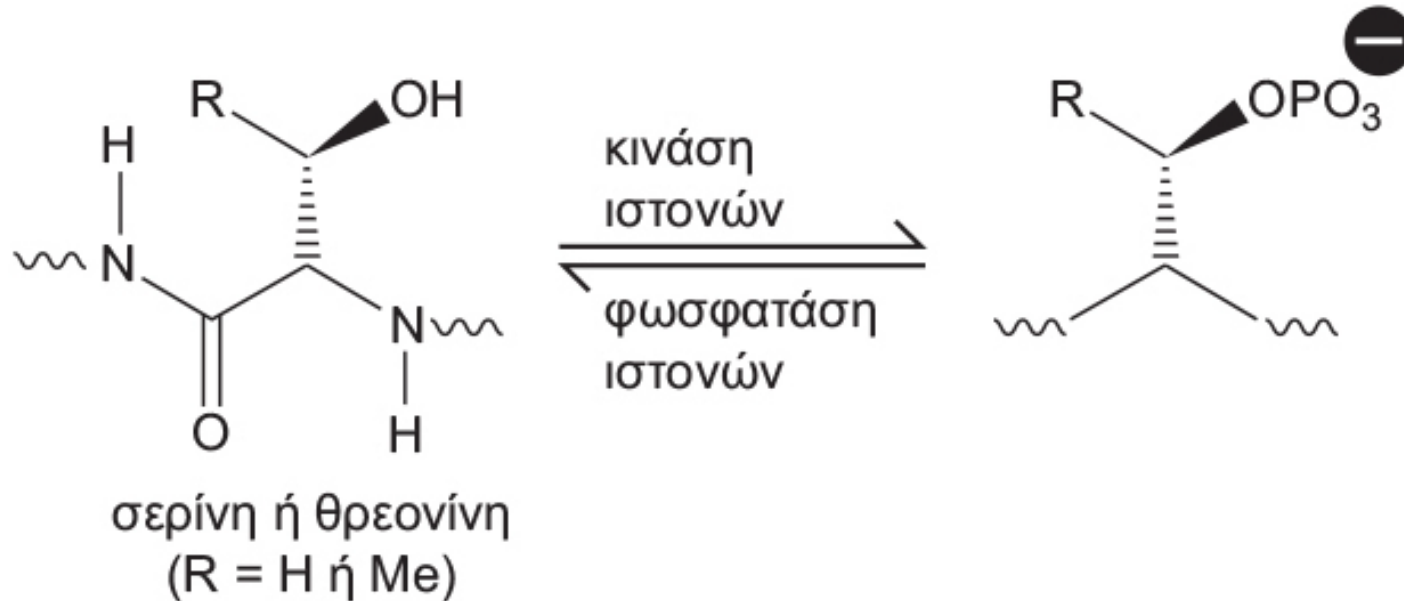
Acetyl group



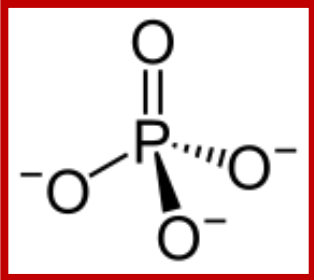
Η ακετυλίωση των ιστονών ευνοεί, αλλά δεν εγγυάται τη γονιδιακή έκφραση

Οι τροποποιήσεις των ιστονών

Φωσφορυλίωση



Phosphate group

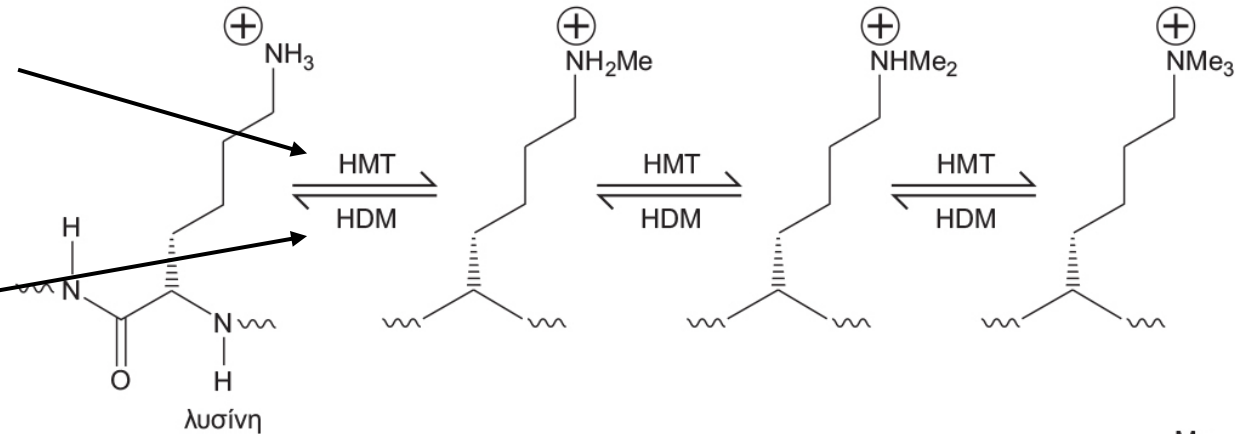


Η **φωσφορυλίωση των ιστονών** είναι δυναμική τροποποίηση που μπορεί να συνδέεται είτε με **γονιδιακή ενεργοποίηση**, είτε με **συμπύκνωση της χρωματίνης**, ανάλογα με το **σημείο**, τον **χρόνο**, και το **κυτταρικό περιβάλλον**.

Οι τροποποιήσεις των ιστονών

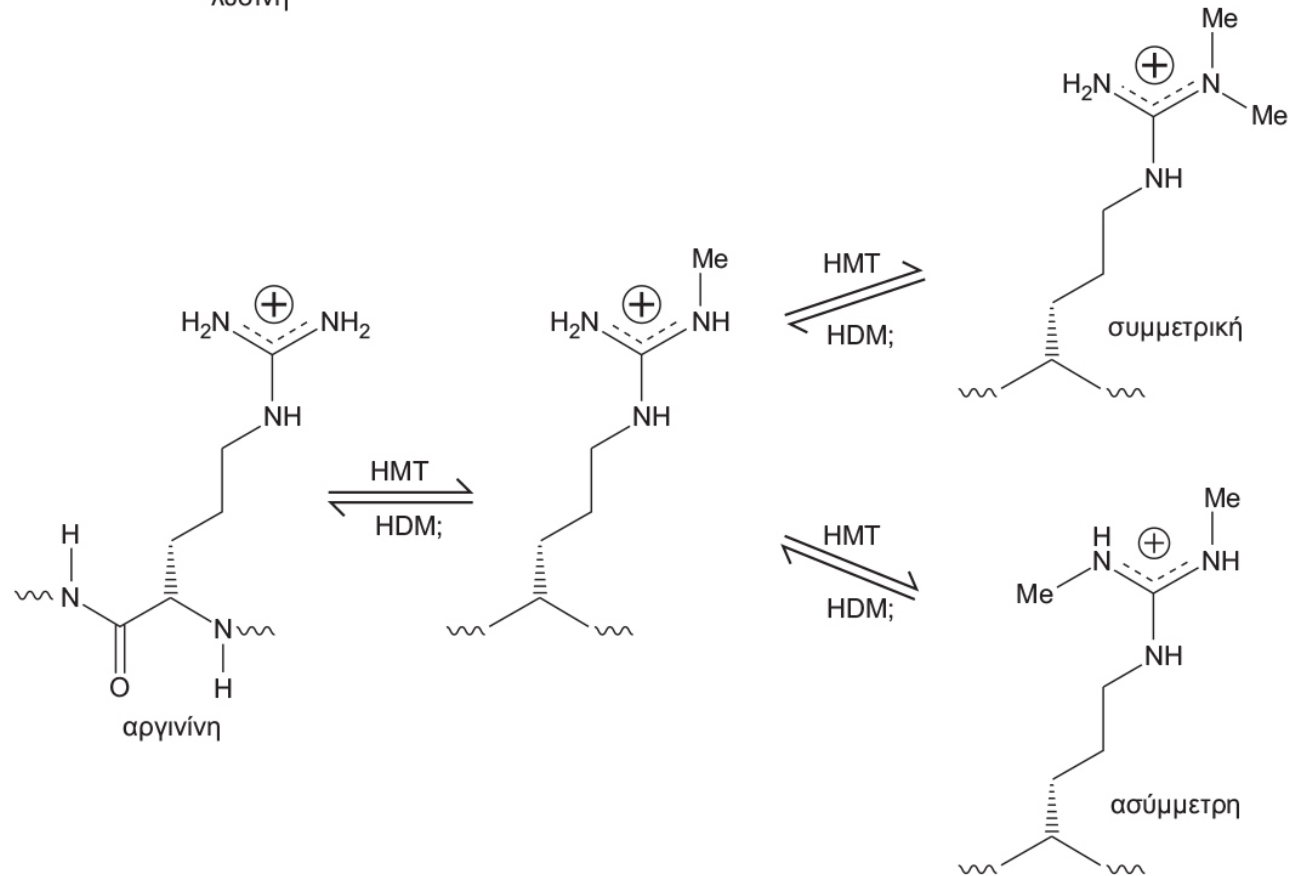
Μεθυλοτρανσφεράσες ιστονών

Απομεθυλάσες ιστονών



Μεθυλίωση

Ρυθμιστική επιγενετική τροποποίηση που μπορεί να ενεργοποιήσει ή να καταστείλει τη γονιδιακή έκφραση, ανάλογα με το που συμβαίνει.



Οι τροποποιήσεις των ιστονών

Οι τροποποιήσεις των ιστονών μεταβάλουν **ΑΝΤΙΣΤΡΕΠΤΑ** την κατάσταση της χρωματίνης

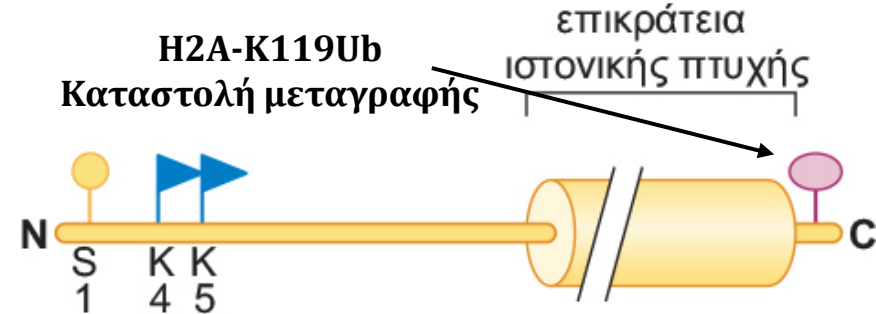
Μεθυλίωση των **H3K4**, **H3K36** και **H3K79** οδηγεί σε γονιδιακή έκφραση

Μεθυλίωση των **H3K9** και **H3K27** οδηγεί σε μεταγραφική καταστολή

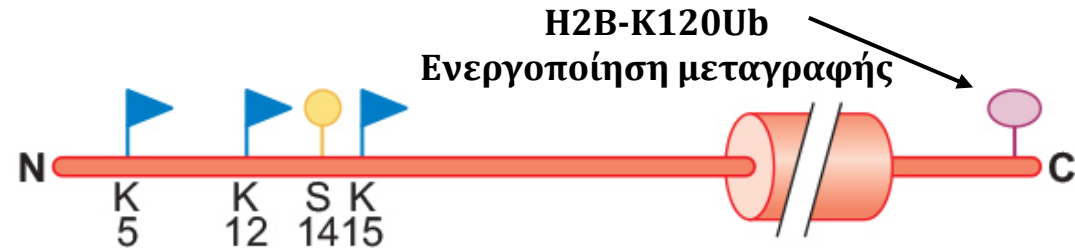
Ακετυλίωση των **H4K8** και **H4K16** οδηγεί σε μεταγραφική ενεργοποίηση



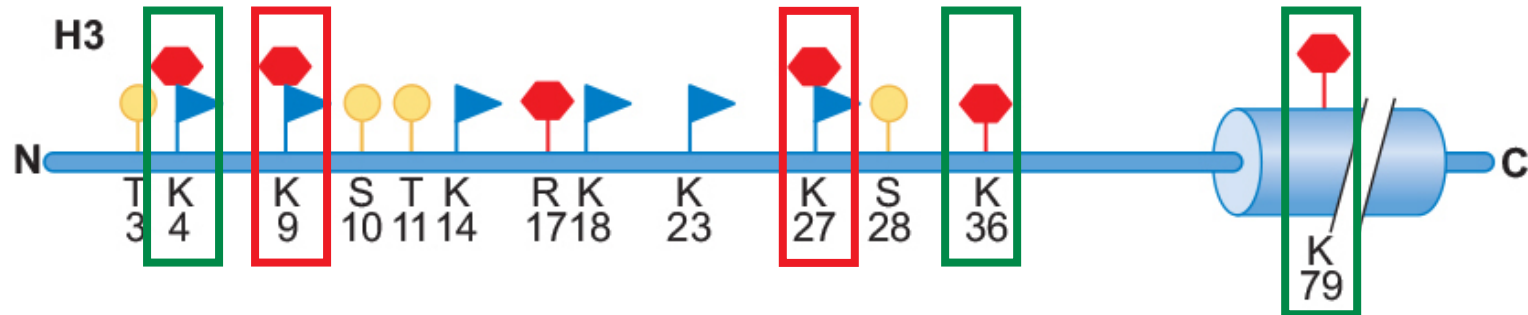
H2A



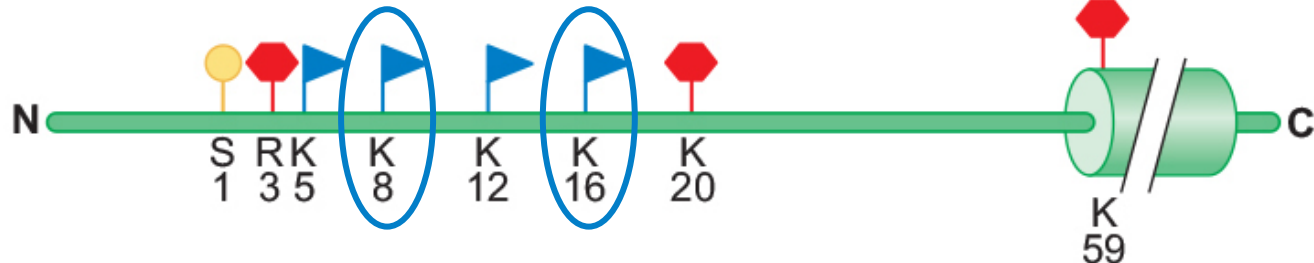
H2B



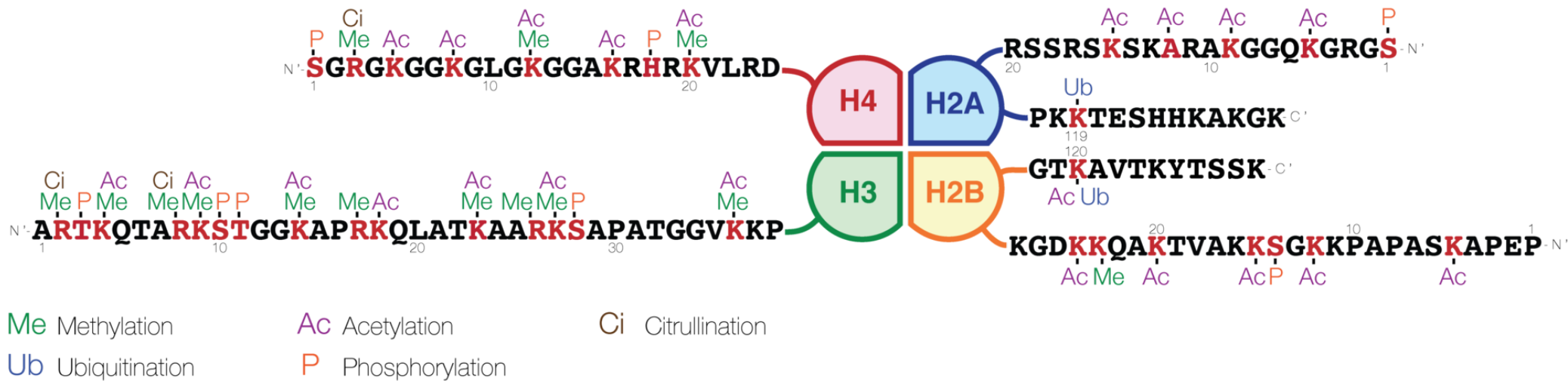
H3



H4



Οι τροποποιήσεις των ιστονών



Οι τροποποιήσεις των ιστονών

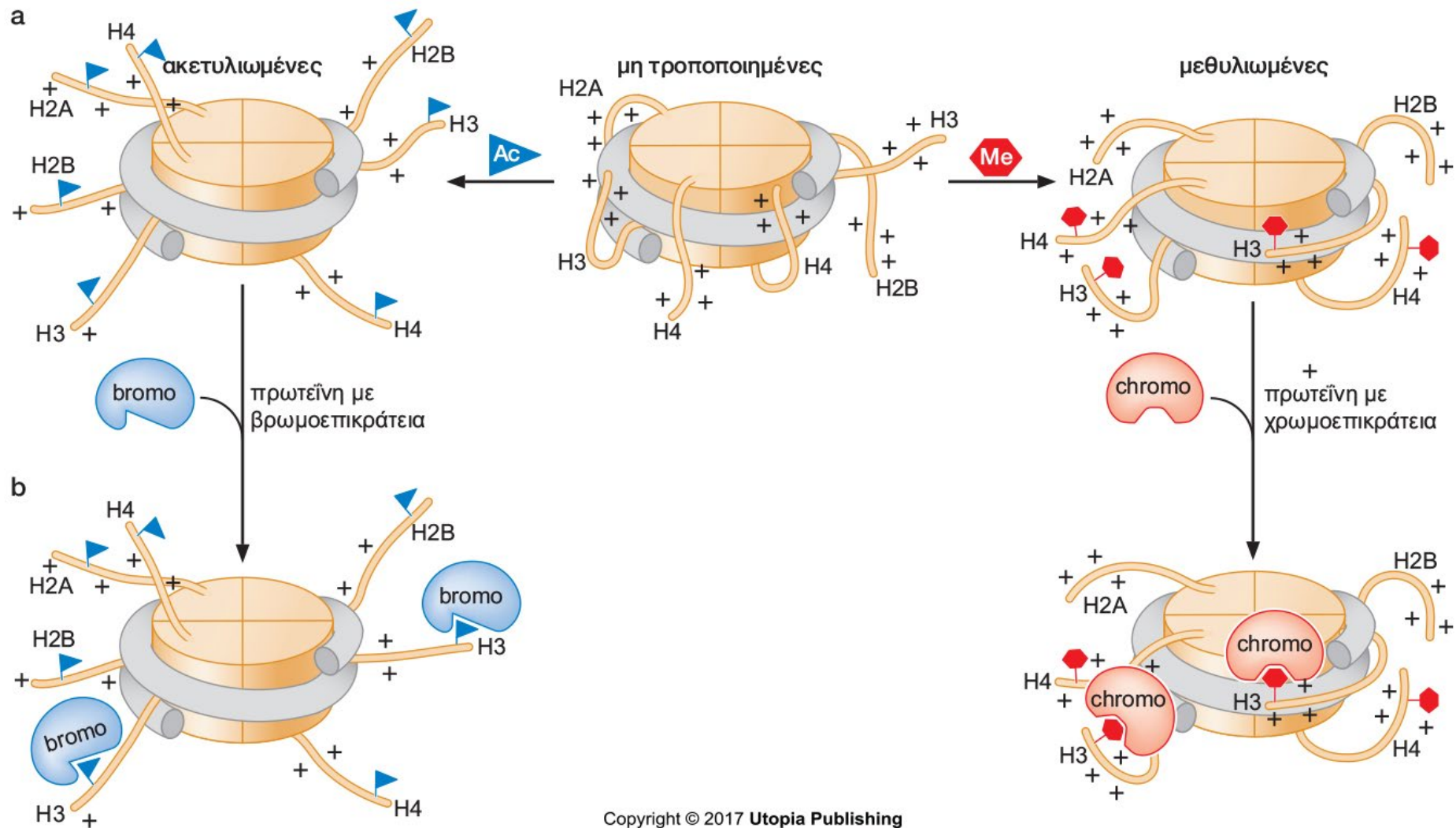
Οι τροποποιήσεις των αμινοτελικών ουρών των ιστονών αλληλεπιδρούν με πρωτεϊνικές επικράτειες των συμπλόκων αναδιαμόρφωσης των νουκλεοσωμάτων

- Οι τροποποιημένες ουρές των ιστονών μπορούν να στρατολογήσουν ειδικές πρωτεΐνες στη χρωματίνη.
- Πρωτεϊνικές επικράτειες που αναγνωρίζουν τροποποιήσεις στις ουρές των ιστονών είναι οι εξής:
 1. Επικράτεια **bromo** (bromodomains)
 2. Επικράτεια **chromo** (chromodomains)
 3. Επικράτεια **TUDOR**
 4. **Δάκτυλοι PHD**

Επικράτειες **bromo**: Αλληλεπίδραση με **ακετυλιωμένες** ουρές ιστονών

Επικράτειες **chromo/TUDOR/δάκτυλοι PHD**: Αλληλεπίδραση με **μεθυλιωμένες** ουρές ιστονών

Οι τροποποιήσεις των ιστονών



Οι τροποποιήσεις των ιστονών

Οι πρωτεΐνες με **bromodomains** διαθέτουν πολλαπλους ρόλους:

1.Αναγνώριση ακετυλιωμένων ιστονών

Συνδέονται με συγκεκριμένες ακετυλιωμένες λυσίνες (π.χ. H3K9ac, H4K12ac).

2.Ενεργοποίηση μεταγραφής

Η πρόσδεσή τους βοηθά στη χαλάρωση της χρωματίνης και τη στρατολόγηση της RNA πολυμεράσης.

3.Συμμετοχή σε σύμπλοκα αναδιαμόρφωσης

Πολλές bromodomain πρωτεΐνες ανήκουν σε πρωτεϊνικά σύμπλοκα που αλλάζουν τη δομή της χρωματίνης, όπως SWI/SNF.

4.Συντονισμός με άλλες επιγενετικές τροποποιήσεις

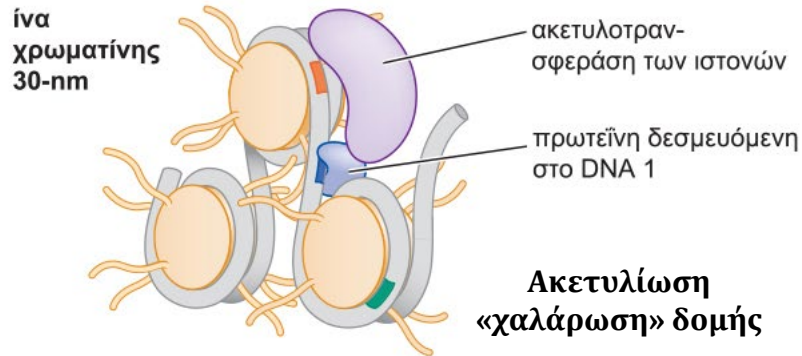
Συνεργάζονται με HATs (histone acetyltransferases) και άλλους “readers/writers/erasers” της επιγενετικής.

Οι τροποποιήσεις των ιστονών

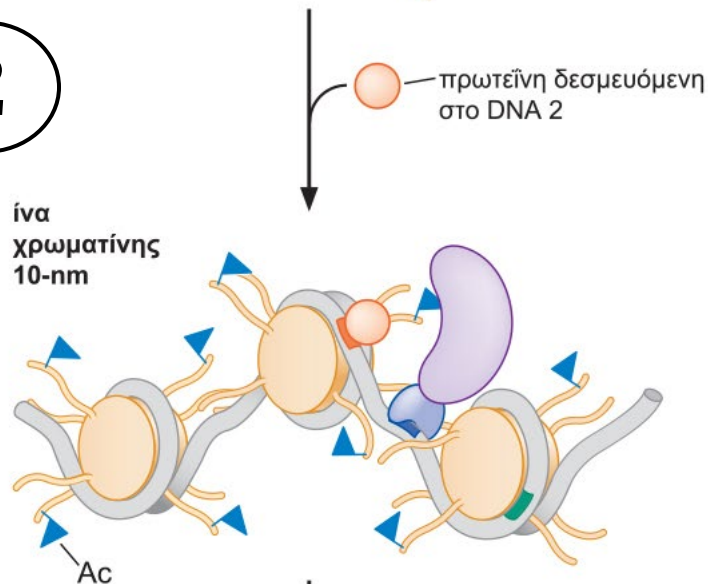
Σύμπλοκα ακετυλοτρανσφερασών των ιστονών				
Τύπος	Αριθμός υπομονάδων	Καταλυτική υπομονάδα	Επικράτειες δέσμευσης ιστονών	Ιστόνες στόχοι
SAGA	15	Gcn5	επικράτεια bromo, επικράτεια chromo	H3 και H2B
PCAF	11	PCAF	επικράτεια bromo	H3 και H4
NuA3	5	Sas3	Δάκτυλος PHD	H3
NuA4	6	Esa1	επικράτεια chromo, επικράτεια SANT, δάκτυλος PHD	H4 και H2A
P300/CBP	1	P300/CBP	επικράτεια bromo, δάκτυλος PHD	H2A, H2B, H3 και H4
Σύμπλοκα αποακετυλασών των ιστονών				
Τύπος	Αριθμός υπομονάδων	Καταλυτική (-ες) υπομονάδα (-ες)	Επικράτειες δέσμευσης ιστονών	
NuRD	9	HDAC1/HDAC2	επικράτεια chromo, δάκτυλος PHD	
Σύμπλοκο SIR2	3	Sir2	Καμία	
Μεγάλο Rpd3	12	Rpd3	Δάκτυλος PHD	
Μικρό Rpd3	5	Rpd3	επικράτεια chromo, δάκτυλος PHD	
Μεθυλοτρανσφεράσες των ιστονών				
Όνομα	Επικράτειες δέσμευσης ιστονών		Ιστόνες στόχοι	
SET1	Καμία		H3 (λυσίνη 4)	
SUV39/CLR4	επικράτεια chromo		H3 (λυσίνη 9)	
SET2	Καμία		H3 (λυσίνη 36)	
DOT1	Καμία		H3 (λυσίνη 79)	
PRMT	Καμία		H3 (αργινίνη 3)	
SET9/SUV4-20	Καμία		H4 (λυσίνη 20)	
Απομεθυλάσες των ιστονών				
Όνομα	Επικράτειες δέσμευσης ιστονών		Μεθυλιωμένη ιστόνη στόχος	
LSD1	Δάκτυλος PHD, επικράτεια SANT		H3 (λυσίνη 4)	
JHDM1	Δάκτυλος PHD		H3 (λυσίνη 36)	
JHDM3	Δάκτυλος PHD, επικράτεια TUDOR		H3 (λυσίνες 9 and 36)	

Οι τροποποιήσεις των ιστονών

1

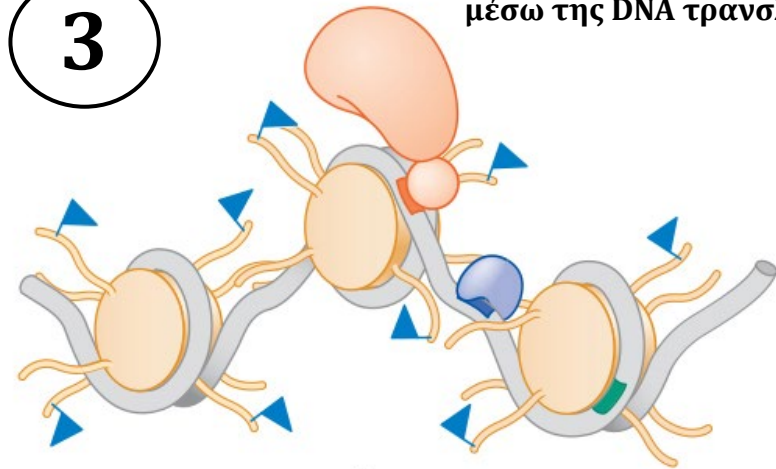


2

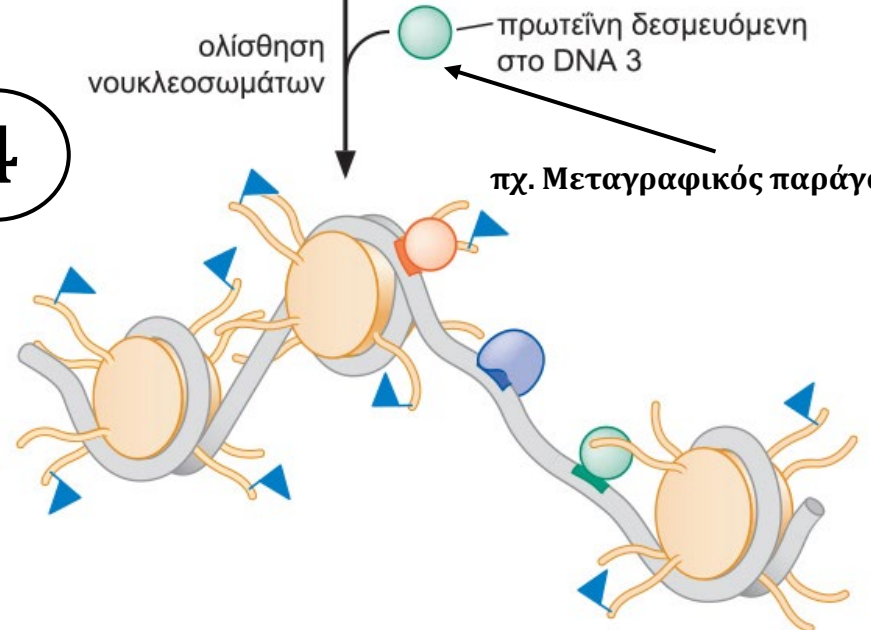


η πρωτεΐνη 2 που δεσμεύεται στο DNA προσελκύει το σύμπλοκο αναδιαμόρφωσης των νουκλεοσωμάτων

3

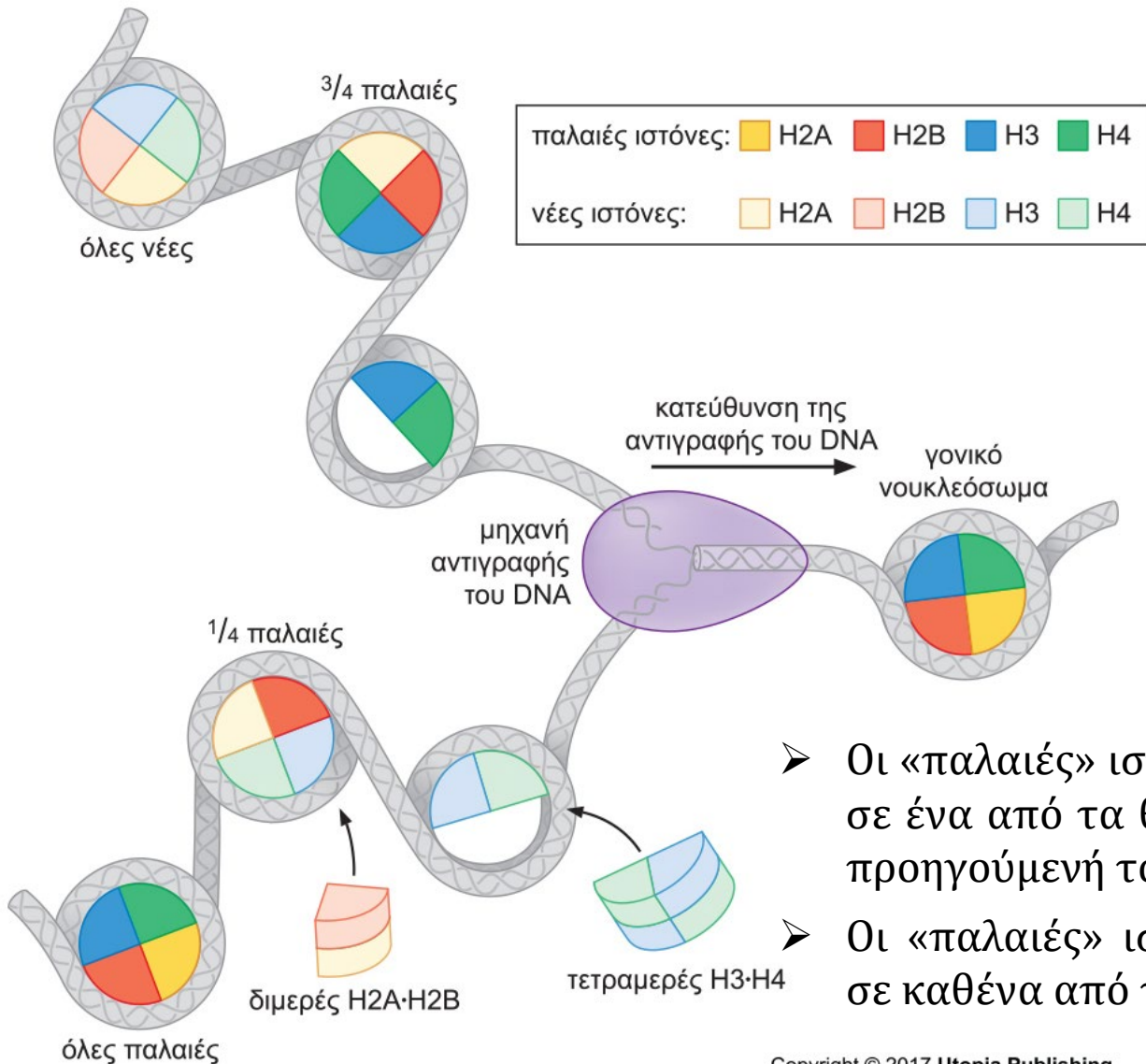


4



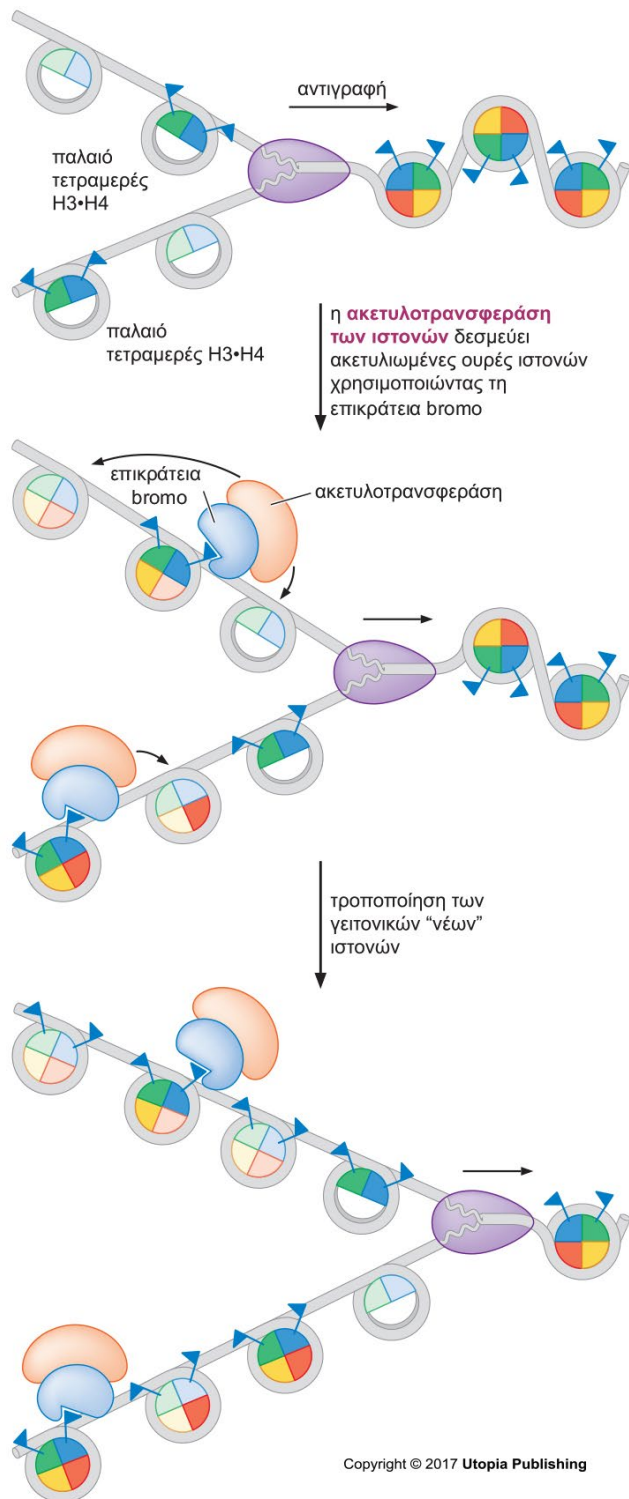
Οι τροποποιήσεις των ιστονών

- Τα νουκλεοσώματα συγκροτούνται αμέσως μετά την αντιγραφή του DNA.
- Οι «παλαιές» ιστόνες είναι παρούσες και στα δύο θυγατρικά χρωμοσώματα.



- Τα τετραμερή H3-H4 **παραμένουν δεσμευμένα** σε ένα από τα δύο θυγατρικά μόρια **τυχαία**.
- Τα διμερή H2A-H2B **απελευθερώνονται** και είναι διαθέσιμα για συγκρότηση νέων νουκλεοσωμάτων.

- Οι «παλαιές» ιστόνες H3-H4 τείνουν να επανασυνδεθούν σε ένα από τα θυγατρικά μόρια, σε μια θέση κοντά στην προηγούμενή τους στο γονικό χρωμόσωμα.
- Οι «παλαιές» ιστόνες έχουν **ίση** πιθανότητα δέσμευσης σε καθένα από τα θυγατρικά χρωμοσώματα.



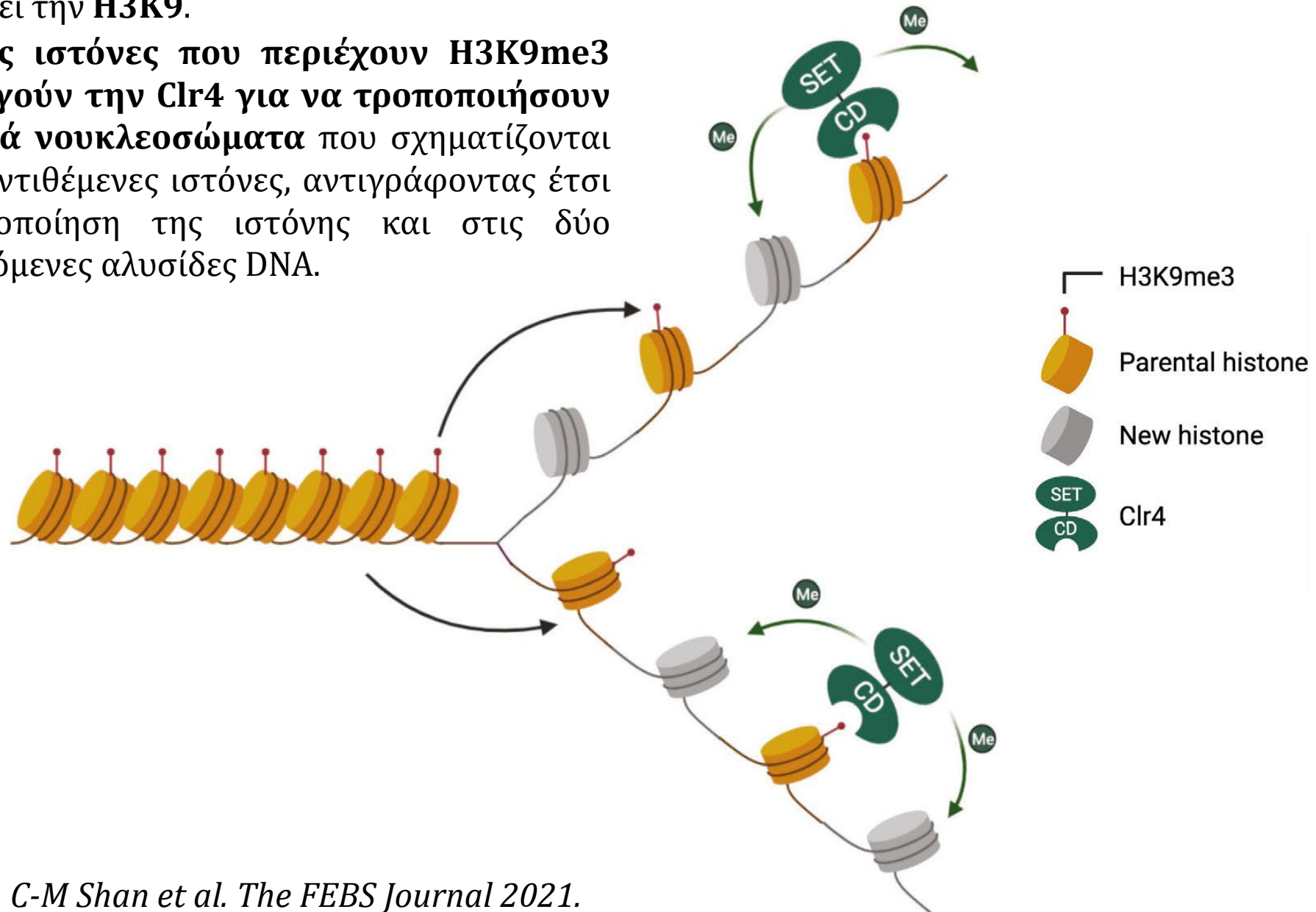
παλαιές ιστόνες: H2A H2B H3 H4

νέες ιστόνες: H2A H2B H3 H4

Ac

- Καθώς αντιγράφεται ένα χρωμόσωμα, η κατανομή των γονικών τετραμερών H3-H4 έχει ως αποτέλεσμα **τα θυγατρικά χρωμοσώματα να λαμβάνουν τις ίδιες τροποποιήσεις που έχουν λάβει χώρα στο γονικό χρωμόσωμα.**
- Η ικανότητα αυτών των τροποποιήσεων να στρατολογούν ένζυμα που επιτελούν τις ίδιες τροποποιήσεις διευκολύνει τη σωστή διάδοση της ίδιας κατάστασης τροποποίησης στα δύο θυγατρικά χρωμοσώματα.

- Κατά την αντιγραφή του DNA, τα γονικά τετραμερή H3–H4 εναποτίθενται πίσω στην αρχική τους θέση και διαχωρίζονται εξίσου και στις δύο θυγατρικές αλυσίδες.
- Η **μεθυλοτρανσφεράση Clr4** περιέχει την καταλυτική περιοχή SET και μια **chromo domain** που αναγνωρίζει την **H3K9**.
- Οι **γονικές ιστόνες που περιέχουν H3K9me3 στρατολογούν την Clr4 για να τροποποιήσουν τα κοντινά νουκλεοσώματα** που σχηματίζονται από νεοσυντιθέμενες ιστόνες, αντιγράφοντας έτσι την τροποποίηση της ιστόνης και στις δύο αναπαραγόμενες αλυσίδες DNA.



Ρύθμιση της δομής της χρωματίνης

Η συγκρότηση των νουκλεοσωμάτων απαιτεί
«μοριακούς συνοδούς» ιστονών

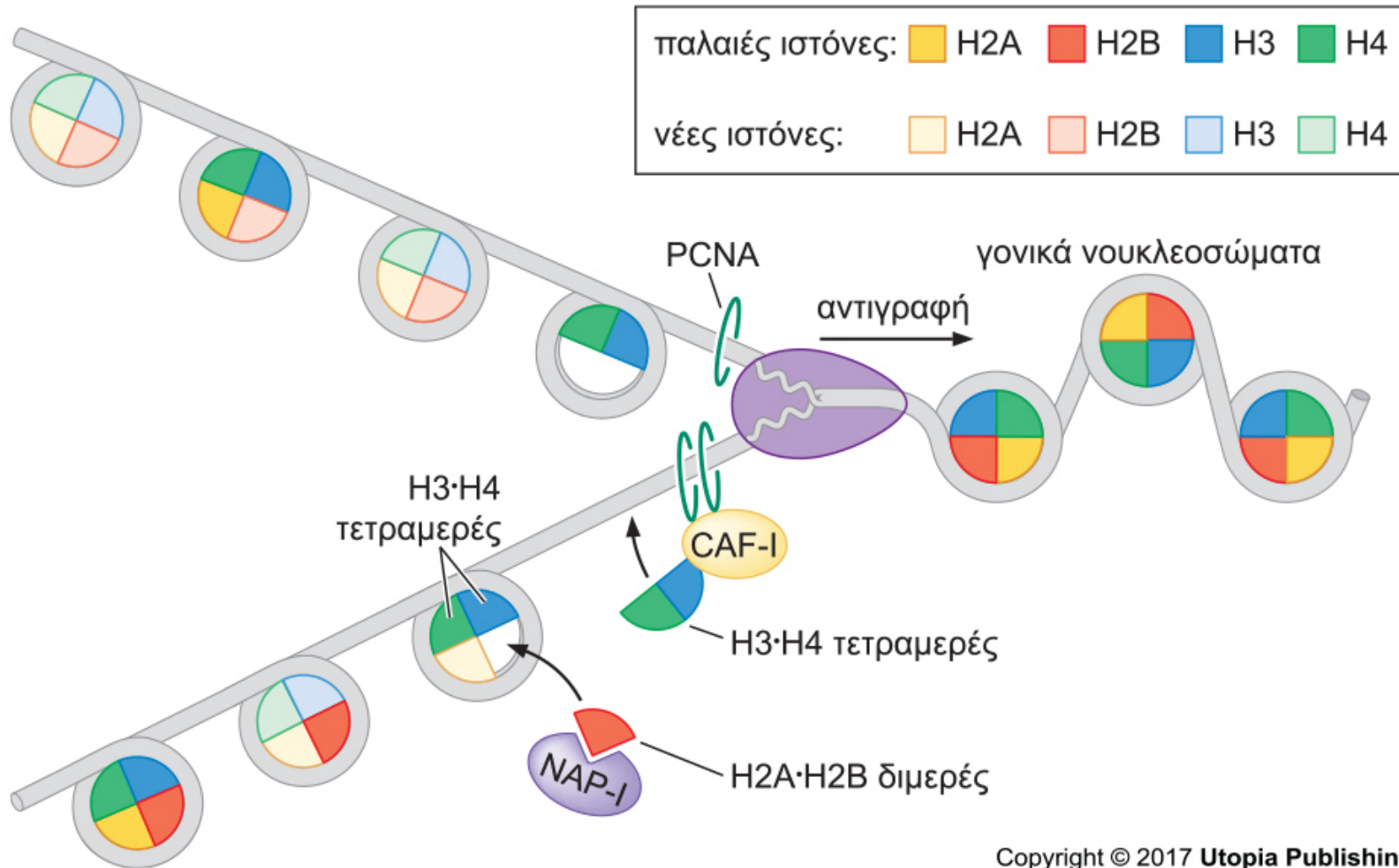
Μοριακοί συνοδοί ιστονών (histone chaperones): Αρνητικά φορτισμένες πρωτεΐνες, οι οποίες σχηματίζουν σύμπλοκα, είτε με τα τετραμερή H3-H4, είτε με τα διμερή H2A-H2B, και τα συνοδεύουν στις θέσεις συγκρότησης νουκλεοσωμάτων.

Όνομα	Αριθμός υπομονάδων	Δεσμευμένες ιστόνες	Αλληλεπίδραση με ολισθαίνοντα συνδετήρα
CAF-1	4	H3·H4	Ναι
HIRA	4	H3·H4	Όχι
RCAF	1	H3·H4	Όχι
NAP-1	1	H2A·H2B	Όχι

Copyright © 2017 Utopia Publishing

- ✓ Η συγκρότηση των νουκλεοσωμάτων που κατευθύνεται από τον CAF-1 **προϋποθέτει ότι το DNA-στόχος αντιγράφεται.**
- ✓ Το αντιγραφόμενο DNA **«σηματοδοτείται»** για συγκρότηση νουκλεοσωμάτων.
- ✓ Το «σήμα» είναι μια **πρωτεΐνη σχήματος δακτυλίου που ονομάζεται PCNA** και σχηματίζει ένα δακτύλιο γύρω από το δίκλωνο DNA.
- ✓ Το **PCNA είναι υπεύθυνο για τη συγκράτηση της DNA πολυμεράσης πάνω στο DNA** κατά τη διάρκεια σύνθεσής του.

Ρύθμιση της δομής της χρωματίνης



Copyright © 2017 Utopia Publishing

- ✓ Αφού η πολυμεράση ολοκληρώσει το έργο της, η PCNA απελευθερώνεται από αυτή αλλά εξακολουθεί να περικυκλώνει το DNA.
- ✓ Σε αυτή τη κατάσταση, η PCNA είναι ικανή να αλληλεπιδράσει με άλλες πρωτεΐνες.
- ✓ Πραγματοποιείται **ένωση του CAF-1 με την PCNA** και συγκροτεί τετραμερή H3-H4 κατά προτίμηση στο DNA που φέρει δεσμευμένη την PCNA.