

Jelzések a kromatin tájon

Első rész

Kromatin, nukleoszómák, hisztonok

BOROS IMRE

A sejtmag anyaga a kromatin. Szerkezetéről és annak változásairól az utóbbi években nagyon sok újat tudtunk meg. Ezen felismerések eredményeként a kromatinszerkezetet ma az *epigenetikai öröklődés* legfontosabb meghatározójának tekintjük. Epigenetikai egy jelleg öröklődése, ha továbbadása nem az örökítő anyag (DNS) építőegységeinek – nukleotidok – sorrendje által meghatározott. Az epigenetikai hatást – mint látni fogjuk – leggyakrabban a kromatinszerkezet közvetíti: az, hogy milyen formában, milyen molekulákkal kapcsolódva található a DNS a sejtmagban. A kromatinszerkezet és változásai azonban nemcsak a sejtek osztódásakor játszanak fontos szerepet, amikor valóban átörökítés történik, hanem a sejtek osztódások közötti állapotaiban is. Osztódás hiányában természetesen nem beszélhetünk epigenetikai szerepről vagy epigenetikai hatásról. Ez sokszor félreértésekre vezet még szakemberek között is. Az írás áttekintést ad a kromatinszerkezetről és annak kapcsolatáról az epigenetikával. Két részben, az utóbbi évek során közölt adatok és saját kutatásaink során szerzett ismeretek alapján tekintem át a kromatin fő alkotóinak és szerkezeti alapegységeinek a jellegzetességeit, továbbá ezek jel, valamint jelzéseket összesítő és közvetítő szerepét.

A változatos megjelenésű kromatinszerkezet

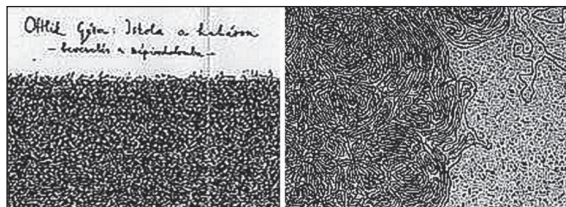
Régóta ismert, hogy a sejtek élete során a kromatin eltérő formákban figyelhető meg: az osztódások során a kromoszómákban összetömörödött, az osztódások közötti időszakokban pedig szinte a teljes sejtmagtér fogatot kitöltően (1. ábra). A kromatin tömör és laza szerkezetű ál-

lapotai közötti átalakulások biztosítják, hogy az örökítő anyag betöltheti szerepét: osztódások alkalmával a kromoszómákba összecsomagolt DNS egyenlően osztható meg az utódsejtek között. Az osztódások közötti időszakokra jellemző fellazult kromatinszerkezetben pedig a DNS egyes részleteiről – a géneknek megfelelő működési egységekről – RNS-másolatokat készíthetnek az enzimek, ami a gének megnyilvánulásához vezető út első lépése. A fellazult és összetömörödött állapotok közötti átalakulások lehetőségét a kromatint alkotó molekulák szerkezete és kapcsolódásuk jellege biztosítja. A kromatin két fő anyagának: a DNS-nek – ami foszfát-csoportjai miatt negatív töltésűekben gazdag – és a hisztonfehérjéknek (amelyek

korfoszfát-lánc negatív töltésű csoportjaihoz. Egyre több a bizonyíték arra, hogy a hisztonok nem csupán csomagolják a DNS-t, hanem azt is jelzik, hogy a csomagolás mikor kibontható, sőt esetenként még a múltban történt kicsomagolás emlékét is őrzi. Ennek megértésére, hogy ezt hogyan teszik, érdemes kicsit részletesebben megismerkednünk velük.

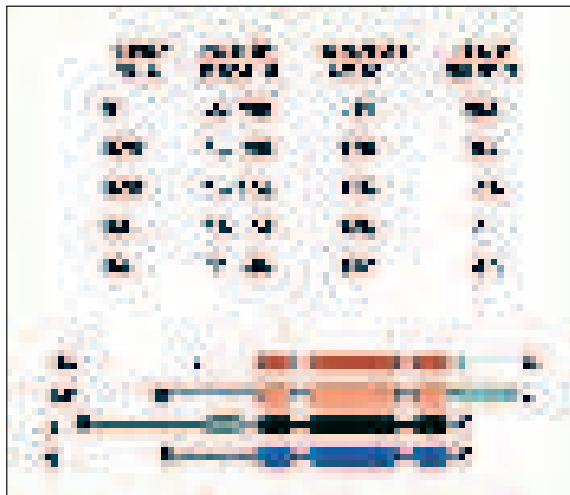
Hisztonfehérjék a kromatinyögység magvai

A hisztonokat valamikor szerkezeti elemeknek tekintették, amelyek jól szolgálnak a tömértelen DNS összecsomagolására, biztosítva ezzel, hogy az elférjen a sejtmagban. Alkalmasnak tűnnek erre, mert mind az öt hisztonféleség (H1, H2A, H2B, H3 és H4) gazdag bázikus jellegű aminosavakban. Aminosavaiknak több mint 20%-a pozitívan töltött csoportot tartalmaz az oldalláncán (2. ábra). Az evolúcióban rendkívül erősen megőrzött aminosav-összetétel sejti, hogy a pozitív töltésű lizinek és argininek fontosak a hisztonok szerepének ellátásához. A H2A, H2B, H3 és H4 hiszton nukleoszómamag (core) hisztonoknak is nevezik, mert ezek képezik a kromatin szerkezeti-alapegységet, a nukleoszóma fehérjekomplexét. A négyféle nukleoszómamagot formáló hiszton mindegyikéből kettő-kettő vesz részt egy korongszerű fehérjeszerkezet kialakításában. A hisztonnyolcasban (oktett) az egyes hisztonféleségek alfa-hélix szerkezetű polipeptid láncrészei között úgy alakul ki szoros kapcsolat, mint ahogy két tenyér illeszkedik egymáshoz kézfogáskor. A korong felszínére pedig 147 bázispár (bp) DNS tekeredik majdnem két teljes kört leírva. A vonzás a DNS cukor-foszfát láncának negatív töltései és a hisztonfehérjék pozitív töltésű aminosav-oldalláncái között biztosítja a stabil fehérje-DNS kapcsolatot. Az így kialakuló DNS-fehérjekomplex a kromatinszerkezet alapegysége, a nukleoszóma (3. ábra). Azokhoz a pontokhoz közel, ahol kezdő-



1. ábra. A szétterülő kromatin képe nagy nagyításban hasonlít az egyetlen oldalra másolt regény szövegének megjelenéséhez. Fontos különbség azonban, hogy a kromatin információtartalma ebben az állapot „olvasható”, míg a regényé nem

a sok lizin és arginin aminosav miatt pozitív töltésűekben gazdagok) az ellentétes töltésű csoportjai önmagukban sejtetik a kromatinszerkezet kialakításában fontos szerepet játszó kölcsönhatásokat. Várható az is, hogy töltéseik eloszlásának megváltoztatása a kromatinszerkezet változását vonja maga után. Valóban, viszonylag régen ismert, hogy a kromatint alkotó hisztonok töltései változhatnak, és ez a kromatinszerkezet megváltozását eredményezi. Az utóbbi években végzett kutatások eredményei rámutattak azonban, hogy a hisztonfehérjék közreműködése a kromatinszerkezet változásaiban sokkal többet annál, hogy oldalláncuk pozitív töltésű csoportjai vonzódnak a DNS cu-



2. ábra. A hisztonfehérjék legfontosabb jellemzői. A hengerek az alfa-hélix szerkezetű, a vonalak a rendezetlen szerkezetű polipeptid-láncrészek

dik és végződik a DNS feltekeredése a fehérjemagra, az ötödik hiszton, a H1 kapcsolódik a DNS-hez. Egy nukleoszóma az utána következőhöz rendszerint néhány száz bázispárnyi DNS-szakasszal kapcsolódik, így alakul ki nukleoszómák sorozataként egy gyöngyfűzrszerű szerkezet, ami a kromatinszerveződés leegyszerűsített szintjét jelenti. A gyöngyfűzérben egymást periodikusan követő egységek mindegyike a magi hisztonok nyolcasából, az arra feltekeredett, valamint a következő nukleoszómaig érő, összesen 200 nukleotidpár DNS-ből és egy molekula H1 kapcsoló hisztonból áll.

Az összecsomagolt DNS nem olvasható

A DNS elrendeződése a gyöngyfűzrszerű nukleoszóma-sorozatokban a molekula kinyújtott hosszához képest csak kismértékű rövidülést jelent. Ez korántsem elegendő ahhoz, hogy a sok DNS, ami például az emberi sejtek esetén kinyújtott állapotban kétszáz méternyi lenne ki, elférjen egy néhány mikrométer átmérőjű sejtmagban. A nukleoszómák gyöngyfűzérei a további feltekeredése és kapcsolódásai azonban újabb és újabb szerveződési lépcsőkön át biztosítják a DNS sejtmagbeli elrendezését (4. ábra). A feltekeredést meghatározó molekulák kölcsönhatásokról és a magasabb rendű szerkezet pontos jellemzőiről, bár egyre több információ áll rendelkezésre, még korántsem teljes az ismeretünk. Az erre vonatkozó adatokkal a továbbiakban itt nem is foglalkozunk. A gének működése közvetlenül a nukleoszómák szerkezetével függ össze. Témánk szempontjából azt érdemes áttekinteni, hogy a nukleoszómák

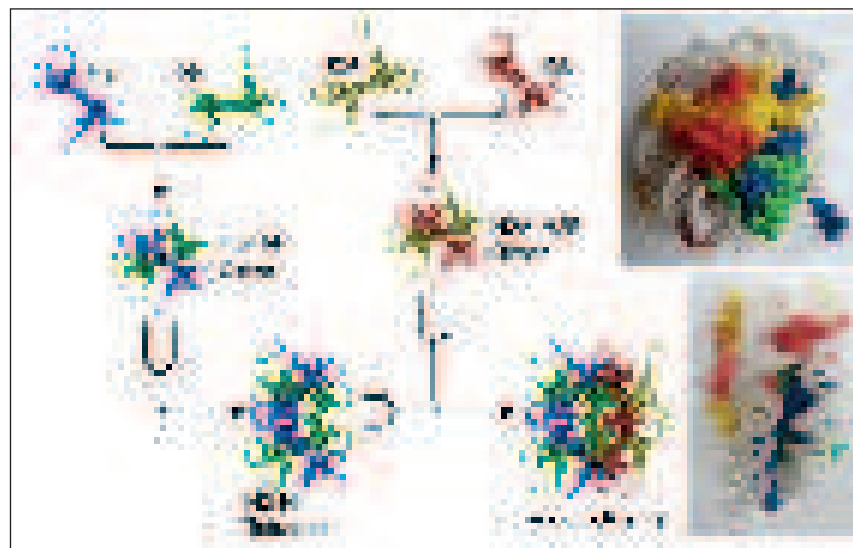
változása hogyan járul hozzá az időszakos és az öröklődő génműködés-változásokhoz.

A hisztonok és a DNS kapcsolatának erőssége egy-egy nukleoszómán belül, valamint az egymással szomszédos nukleoszómák között fennálló kapcsolatok határozzák meg azt, hogy a kromatinszerkezet nyílt vagy zárt. Valamely gént tekintve a genom egy adott pontján a nyílt szerkezet segíti, a zárt akadályozza a genetikai információ kiolvasását. Hisztonfehérjékre feltekeredett állapotban ugyanis a DNS csak korlátozottan tudja betölteni a génátíráskor a minta (templát)

szerepét, mert nem fér hozzá az RNS-szintetizáló enzim. Ahhoz, hogy egy-egy DNS-részen gyakori génátírás történjen, szükséges a nukleoszómák legalább időszakos eltávolítása. A fordított eset is igaz: ha arra van szükség, hogy egyes gének tartósan kikapcsolt állapotban legyenek – ezt indokolhatja például a sejt

megváltoztathatja nukleoszómákon belül a DNS-hiszton kapcsolatot és a szomszédos nukleoszómák egymás közötti kapcsolatát. Legszükségesebb esetként a nukleoszómák eltávolítása is megtörténhet. Rendszerint ezt is a hisztonok módosítása készíti elő.

Egyes aminosav-oldallánccok a hisztonfehérjékben számos módon módosíthatók a fehérjeszintézis befejezése után is, már a sejtmagi kromatinban. Enzimek kisebb-nagyobb molekularészleteket kovalens kötésekkel kapcsolhatnak az aminosav-oldallánccokhoz. Ezek az enzimek rendszerint specifikusak egy-egy hisztonfehérjére és abban meghatározott helyzetű aminosav-oldallánccra. Hasonló módon, a módosító csoportokat eltávolító enzimek is – mert a módosítások döntő többsége el is távolítható – specifikusak. Több mint tízféle módosító csoportot és hatvanál is több módosítható aminosav-oldallánccot ismerünk. Ezek kombinációjával összetett hisztonmódosítás-mintázatok jöhetnek létre. A módosítások már azzal is nagy hatást okoznak, hogy a DNS és hiszton közötti kapcsolatot a megváltozott töltések miatt megváltoztatják. A módosítások másik rendkívül fontos szerepe az, hogy jelzésként szolgálnak. Az általuk alkotott jelzések irányítják a többi fehérje



3. ábra. Hisztonfehérjék kapcsolódása a nukleoszóma-mag kialakításához. Jobbra egy nukleoszóma-modell képe két nézetben. Színesen jelzett a hisztonok nyolcása, fehér a köré tekeredő DNS. Jól látható a fehérjerészek és a DNS szoros kapcsolata

differenciáltsági állapota –, akkor ez a nukleoszómák közötti kapcsolatok megerősítésével, a kromatin szorosabbra tömörítésével biztosítható. A tömörebb és lazább kromatinszerkezet között az átmenet a kromatinalkotók egymás iránti affinitásának megváltoztatásával érhető el. Ennek módja a hisztonfehérjék módosítása, ami

működését a sejtmagban, amivel azok a genetikai információ megőrzését, továbbadását és megszólaltatását biztosítják. A jelzések persze csak akkor érnek valamit, ha jól láthatók. A hisztonok esetében ez azt jelenti, hogy a módosítások a nukleoszómák felületén jól „látható” helyekre kerülnek.

Jelek a hisztonvégeken

A nukleoszóma központi részét alkotó fehérjekorongot a hisztonok középső, alfa-hélix szerkezetű részein kialakuló kölcsönhatások tartják össze. A molekulák végei nem vesznek részt a mag kialakításában, és mind a négy nukleoszóma-alkotó hiszton polipeptidláncának első 20–30 aminosavnyi része rendezetlen szerkezetben, a mag felszínén helyezkedik el. A magra feltekeredett DNS kettős spiráljai között ezek a részek kinyúlnak a nukleoszóma felületére. A végek közelében levő aminosav-oldalláncok felszíni helyzete lehetővé teszi, hogy hozzájuk fehérjék kapcsolódjanak. Mind a négy nukleoszóma-alkotó hiszton leggyakrabban ezeken a részeken módosított. (Megjegyzendő, hogy ismertek módosítások a nukleoszóma-mag belsőbb részeiben és a polipeptidlánc másik végének közelében elhelyezkedő aminosav-oldalláncokon is.) A lehetséges módosítások változatosak a helyzetüket, a módosító csoportok típusát, azok töltését, méretét és a módosítás fennmaradásának idejét tekintve egyaránt. A leggyakoribb módosítások az acetyl- vagy metil-csoportok lizin-oldalláncok láncvégi (epszilon) N-jéhez kapcsolva. Az acetyl-csoport semlegesíti a pozitív töltésű láncvégi aminocsoportot. A metilcsoport, amiből egy, kettő és három is kapcsolható egyetlen lizin oldallánc-

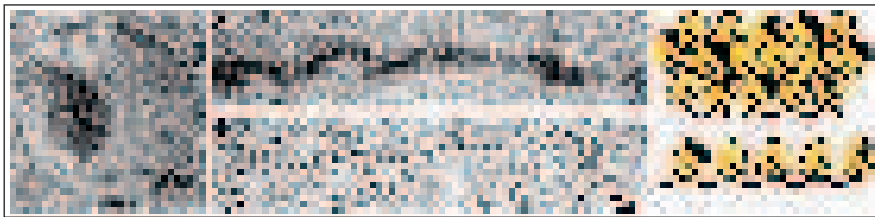
ra, a molekuláris töltését nem változtatja meg, de alakját jelentősen. Az előbbi két csoporton kívül számos további savmaradék (hangyasav, vajsav, borostyánkősav, malonsav, krotonsav) és más természetű molekuláris rész (ADP-ribozil-, glikozil-rész, N-acetilglükózamin rész) is előfordulhat a lizin N-hez kapcsolva. Egyes módosító csoportok maguk is hatalmas, közel száz aminosavból felépülő polipeptid (ubiquitin, SUMO). Tekintettel arra, hogy mind a négy nukleoszóma-alkotó hiszton számos lizin-aminosavat tartalmaz a polipeptidlánc első részén (pl. a H3 hisztonban a 9. 14. 18. 23. és 27, a H4-ben az 5. 8. 12. és 16. aminosav), a lizin-módosítások önmagukban is változatos módosítási mintázat kialakítására adnak lehetőséget. Tovább fokozza a változatoságot, hogy gyakran arginin, hisztidin, szerin aminosav-oldallánc, rit-

kábban pedig még számos további is módosítást hordoz. A szerin foszforilálása egy semleges molekuláris részlet többszörös negatív töltésű csoporttá alakítását eredményezi. Mint várható, ez nagy hatással van a hiszton és a DNS kapcsolataira az adott molekuláris részen. A módosítások egyes formái egymástól nem függetlenek: gyakran egy módosítási forma előzménye és okozója egy másik kialakulásának, vagy éppen fordítva, egy módosítás létrejötte kizárja egy másik létrejöttét.

A hisztonmódosítások meghatározzák a kromatin-tájat

A génműködést vizsgáló kutatások utóbbi időszakának felismerése, hogy a hisztonfehérjék sokféle módosítási kombinációja jelzési rendszerként szolgál. A jelzésekben összegeződik az információ, ami meghatározza a sejt differenciálódási állapotára jellemző, és a pillanatnyi külső és belső környezetének megfelelő génműködési programot. A jelzéseket fehérjék értelmezik, és a jelzések által meghatá-

pek. A kromatintérképek leírják, hogy a genetikai állomány egyes részeit milyen szerkezeti és működési sajátosságok jellemzik. A szerkezeti sajátosságok leggazdagabb része a hisztonmódosítások sokféle variációja. Ezek leggyakrabban előforduló kombinációit színekkel jelezve és a színeket felfestve a kromatin-szálakra, mint domborzati térkép jeleníthető meg az örökítő anyag, jellegzetes szerkezetű tájakra tagolva. A térképek összeállításával az a cél, hogy adataik segítségével szolgáljanak a szerkezet és a működés közötti ok-okozati kapcsolatok felismerésében. Elemzésükkel a szerkezeti hasonlóságok alapján a már ismert működésű részek jellegzetességei szerint a még nem ismert részek működésére következtethetünk. A térképek adatai önmagukban azonban nem alkalmasak annak eldöntésére, hogy egy adott szerkezeti állapot egy meghatározott működés okozója, vagy következménye-e. A kromatinszerkezet térképhez hasonlítása természetesen sok egyszerűsítést kíván. Ellentétben a kétdimenziós egyszerű térképekkel, a kromatin-tájat leíró háromdimenziós, mert a kromatin sejtmag terében működik. Sőt, a kromatin leírásakor a negyedik dimenzió is rendkívül fontos, hiszen pontosan arra szolgál a leírás, hogy időben egymást követő változásokat értelmezzünk a segítségével. A feladat olyan, mintha egy nagyváros iskoláinak, üzemeinek, hivatalainak stb. tevékenységéről az úthálózat és a forgalomról készült pillanatfelvételek alapján kellene részletes leírást adni. Minden korlát és egyszerűsítés ellenére a térképhasonlat számos tekintetben segít a kromatinszerkezet egyes jellemzőinek leírásában. A következő részben néhány példával szemléltetem, hogy mit sikerült megérteni és értelmezni a kromatinjelekből.



4. ábra. Balra a sejtmag kromatin-állománya látható osztódások közötti állapotban. Középen, ahogy a nukleoszómák „gyöngyfűzére” (A) és legegyszerűbb feltekeredésük (B) az elektronmikroszkóppal láthatóvá tehető.

Jobbra a középső kép sematikus rajza

rozott módon biztosítják a gének ki- és bekapcsolását. Pontosabban a jelzések nem igazán a ki- és bekapcsolást, hanem annak a lehetőségét biztosítják vagy zárják ki. Nem útzárak és stop táblák, sokkal inkább sárga villogók és sebességkorlátozó jelzések. A kromatinszerkezet működést gátló alapbeállításából ered, hogy a jelzések többnyire nem gátló, hanem éppen felszabadító, gyorsító hatásúak. Az utóbbi néhány évben emberi sejtek és modellként használt élőlények kromatinállományán végeztek rendkívül részletes vizsgálatokat azzal a céllal, hogy meghatározzák az egyes állapotokra jellemző kromatinszerkezeti jellemzőket. E vizsgálatok eredményei részletesen leírták a módosított hisztonfelekések előfordulási gyakoriságát a kromatin egyes részein. Az így nyert, rendszerint teljes genomokra kiterjedő adathalmazok a kromatintérképek, vagy kromatin tájké-

Köszönet

Az összefoglaló elkészítéséhez támogatást nyújtott a TÁMOP-4.2.4.A/2-11/1-2012-0001 azonosító számú Nemzeti Kiválóság Program. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.