

BOROS IMRE

Jelzések a kromatin tájon

Második rész

Jelíró és -olvasó molekulák

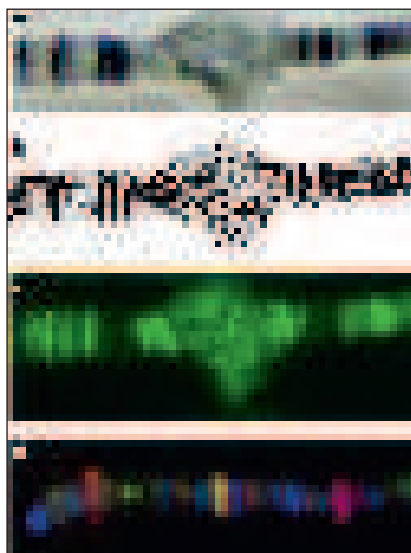
Az írás első részében a kromatinszerkezet legkisebb egységének, a nukleoszómának a felépítését és a hisztonfehérjék módosításait ismertük meg. Bemutattam, hogy a hisztonmódosítások fontosak, mert megváltoztatják a fehérjék és a DNS közötti kapcsolat erősségét, továbbá mert jelzésként szolgálnak. A két szerep együtt jár és nehezen választható el egymástól. A módosítások szerkezetváltozást indítanak el és a jelzések újabb módosítások kialakításához vezetnek, amelyek tovább fokozzák a szerkezetváltozásokat. Az eredmény kromatindinamika: idő és térbeli (akár a genom egyes részeit, akár a sejtmag egyes területeit tekintve) folyamatos változás az örökítő anyag elrendezésében, ami a gének működésének lehetőségét fokozza, vagy gátolja.

A nukleoszómák eltávolíthatók és visszarendezhetők

A kromatinszerkezet megváltoztatásának legdrasztikusabb módja a nukleoszómák eltávolítása. Erre minden sejt számos fehérjét és fehérje-együttest működtet. A folyamat energiát igényel, amit a kromatint ártrendező fehérje-együttesek ATP hasításával nyernek. Az energia felhasználásával a kromatint ártrendező fehérjék szerepe önmagában is érdekes, témánk szempontjából azonban a legfontosabb, hogy ezek működését is a nukleoszómák jelzései vezérlik. A fehérje-együttesek tagjai között egyesek „felismernek” hisztonokon elhelyezett módosító csoportot és ahhoz kapcsolódva az adott kromatinrészhez tobozzák a nukleoszóma-eltávolítókat.

Nukleoszóma nélkül azonban a sejtmagi DNS rendszerint csak rövid időszakokra maradhat, mert a csupasz DNS sérülékeny. A nukleoszóma nélküli hosszabb DNS-részek rendszerint csak a nagyon gyakran átírása kerülő géneknek megfelelő régiók. Az ilyen részekben pedig az átírást végző enzim és a hozzá csatlakozó fehérjék burkolják be a DNS-t. Sokkal általánosabb a nukleoszómák időszakos eltávolítása, vagy még gyakrabban az elhelyezkedésük megváltoztatása. Az

RNS-t szintetizáló enzim előtt időszakosan eltávolítódnak a nukleoszómák, majd miután áthalad a szintézis az adott ponton, visszahelyeződnek (1. ábra). Van olyan, húsznál is több alegységet tartalmazó fehérjekomplex, ami mintegy utat nyit az RNS polimeráznak



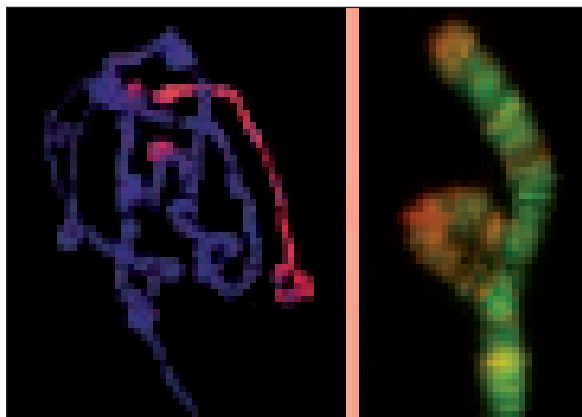
1. ábra. Kétszárnyúak egyes szövegeiben a DNS többször megkettőződik, de sejtmagosztódás nem történik, ezért közel ezer párhuzamosan egymás mellé rendezett nukleoszóma-láncfűzért tartalmazó óriáskromoszómák jönnek létre. Az óriáskromoszóma egyes részein a nukleoszómák sűrűsége eltérő, ami erősebb és gyengébb fényelnyelő részekből álló sávos mintázatot képez (a,b). RNS-átírás csak a laza szerkezetű kromatint tartalmazó részekben történik (c). Jellegzetes festődési mintázat kialakulása mutatja a DNS-t (kék), valamint az RNS-átírást végző (piros) és egy hiszton-módosításban részvevő fehérje (zöld) kapcsolódását az óriáskromoszóma kromatinban

azáltal, hogy a hisztonok pozitív töltésű oldalláncait semlegesítve, meglazítja a kapcsolatot a DNS-sel, és elősegíti annak a le-

tekeredését a fehérjemagról. Ilyen esetekben, a polimeráz elhaladását követően, a nukleoszómák visszarendezése lehetőséget ad a szakasostól eltérő hisztonok beépítésére. Ezzel az adott gén emlékéét őrzi a közelmúltban megtörtént átírásának. Más esetekben, még pontosan nem ismert módon, a polimerázzal együtt haladó fehérjék csak időszakosan teszik félre a nukleoszómák hisztonjait, majd az enzim elhaladása után ugyanazokat a hisztonokat visszahelyezve állítják helyre a nukleoszómát. Ez a megoldás biztosítja a korábbi időszakban létrejött hisztonjelzések megőrzését. Amikor új hisztonokból épül vissza a nukleoszóma, akkor a jelzések újraképzése vagy törlése a „molekuláris emlékezés vagy felejtés” eszköze. A DNS megkettőződések a régi hisztonmolekulák is megosztódnak a régi és az új DNS-szállakból álló kettős láncok között, és jelzéseik mintaként szolgálnak az ilyenkor nagy mennyiségben szintetizálódó új hisztonmolekulák dekorációjának kialakításához.

Egy kis energiával a nukleoszómák odébbtolthatók

A nukleoszómák elrendezése a DNS adott pontjaihoz viszonyítva önmagában is fontos információ a kromatintérképben. Gének kezdőpontjai környezetében a nukleoszómák rendszerint nem véletlenszerűen, hanem egy adott ponthoz viszonyítva meghatározott helyzetekben találhatóak. Gyakran a gén bekapcsolásának egyik első lépése az átírás kezdőpontjához közeli nukleoszóma eltávolítása, vagy odébbhelyezése 50–100 nukleotiddal az RNS szintézist végző enzim kapcsolódása előtt. Ez a megoldás a nukleoszóma-, vagy kromatinártrendezés. Az ártrendezést végző enzimek ATP bontásával nyerik az energiát ahhoz, hogy meglazítsák a kapcsolatot egy-egy nukleoszóma hisztonmagja és a körje tekeredett DNS részletei között. Hasonlóan ahhoz, mint ahogy a cipőfűzőnket arányosan osztjuk el, ha féloldalra kilóg, az enzimek főregrszerrő mozgásokra készítetve a DNS-t, mint-



2. ábra. Musca óriáskromoszómái. A kék szín a DNS-t, a piros a 16. lizin oldalláncon acetil-csoporttal módosított hiszton 4-et jelöli. A kép közepén látható pirosan festett rész egy darabka X kromoszóma, ami törés-újraegyesüléssel átkerült egy másik kromoszómára, ahol jellegzetes hiszton-módosítást megőrizte. Jobbra az áthelyeződött kromoszómárészlet kinagyítva

egy odébbtolják a nukleoszómát. Mindez megtörténhet anélkül, hogy a DNS és a hisztonmag kapcsolata egy pillanatra is teljesen megszűnne. Számos eset ismert a nukleoszóma előbb vázolt elmozdítására egy gén aktivációjának első lépéseként.

A vírusfertőzések hatására immunsejtjeink egy része a védekezés elindításához interferont termel. Ehhez az RNS-szintetizáló enzimnek kapcsolódnia kell az interferon gén kezdőpontjához. Nyugvó állapotban azonban az egyik legelsőként bekapcsoló interferon gén kezdőpontja nukleoszómát alkotva, hisztonokra feltekeredett állapotban helyezkedik el. Vírusfertőzést követően, a gén egy távolabbi szabályozó részén olyan változások indulnak el, amelyeknek eredményeként ez a nukleoszóma 50 nukleotiddal odébbhelyeződik. Az ehhez vezető folyamatban több fehérje együttműködése szükséges: egy részük pozitív töltéseket semlegesít acetilcsoportokat helyezve az ebben a nukleoszómában levő egyes hisztonok lizin oldalláncaira. Más enzimek felismerik a módosított lizinet és azokhoz kapcsolódva ATP-t hasítanak, hogy az így nyert energiával elmozdítsák a DNS-t a hisztonmagon. Végül szabaddá válik, azaz két nukleoszóma közötti DNS-részre kerül a gént átíró RNS-polimeráz kapcsolódási helye. Egész pontosan, egy TATA nukleotidsorrendet tartalmazó DNS-részlet, amihez először nem is a polimeráz, hanem egy annak segítő fehérje kapcsolódik. Kapcsolódása további nukleoszóma-átrendező folyamatokat indít el, ami lehetőséget ad az RNS-szintézist katalizálni tudó polimeráz kapcsolódására is. A polimeráz működése a gén átírását eredményezi, és ennek lesz a következménye, hogy a sejt interferon-termeléssel válaszol a vírusfertőzésre.

Természetes a kérdés, hogy mi és hogyan jelezte a sejtnek, hogy vírusfertőzés történt, és mi indította el a nukleoszóma-átrendező fehérjék működését? Ennek megismerése a hisztonok és nukleoszómák legérdekesebb szerepéhez vezet: ahhoz, hogy a nukleoszómák hisztonjai jelzéseikben összefoglalják és közvetítik a sejtet érő hatásokat. Mielőtt ezt tárgyalnánk, érdemes kiemelni, hogy az említett kromatinszerkezet-változások génműködés-változásokat eredményeznek. Ezeknek egy része a sejt életének egy rövid időszakában fennmaradó működés-változás, ami

nem adódik át osztódáskor, azaz nem epigenetikai hatás. A kromatinszerkezet-változás hatása azonban, mint az interferon-termelés esete is szemléltetheti, öröklődhet is. Ha a vírus elleni védekezés időben elhúzódó interferon-termelést kíván, és a sejt jelzéseket kap osztódásra, akkor az interferongént aktivált állapotban adja tovább utódsejtjeinek. Ez epigenetikai hatás, mert az interferont termelő és nem termelő sejtek között a különbség nem DNS-nukleotidsorrendben, hanem a gén hozzáférhetőségében van. A példa szemlélteti a kromatinszerkezet és epigenetika összetett viszonyát: ugyanolyan szerkezet-változás az öröklődést tekintve (is) eltérő hatású lehet.

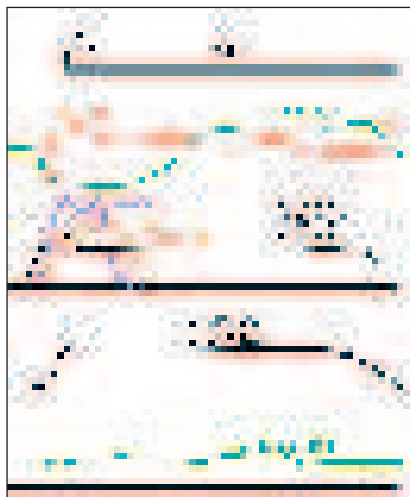
Egy hisztonmódosítás hatása néha egyértelmű, máskor a többitől is függ

A módosítások változásokat okoznak a töltések eloszlásában, ez megváltoztatja a szomszédos nukleoszómák közötti kapcsolatokat és ezzel a kromatinszerkezetet. Példaként szolgálhat erre a muslicáknak az a sajátos génszabályozása, ami biztosítja, hogy az X kromoszómán található génekről annyi génterméket képződjön hímeiben is, mint nőtény társaikban. A hímek ugyanis csak egy, míg a nőtények két X kromoszómát tartalmaznak. Hímeiben az X kromoszóma nukleoszómáinak H4 molekuláiban a 16. aminosav acetilált lizin. Ennek eredményeként hímeiben az X kromoszóma kromatinszerkezete lazább, mint a nőtényekben. A lazább kromatinszerkezet pedig lehetővé teszi a gyakrabban géntírást (2. ábra).

A muslica hímek említett esete alkalmas arra, hogy a hisztonmódosításokkal kapcsolatos további kérdést érintésére: nevezetesen, hogy mindig olyan egyértelmű-e egy módosítás hatása, mint a H4 acetilált 16. lizin géntírást fokozó szerepe? A kérdésre a válasz határozottan nem. Példaként szolgálhat erre a hiszton H3 10-es szerin aminosava, amit gyakran foszfátcsoport módosít. A foszforilált szerin előfordulhat egyes gének átírását szabályozó régiókban vagy az egész kromoszómára kiterjedően. Az első esetekben a foszfátcsoport a kromatinszerkezet lazulását okozza, és a géntírást fokozza. Ezzel pontosan ellentétes a kromatinszerkezet változása sejtosztódáskor, amikor a kromoszómák képződéséhez a DNS összetömörödik. A foszfátcsoport a H3 10-es szerin oldalláncon ebben az állapotban is kimutatható. Az azonos módosítás, de eltérő eredmény okának részletezésére itt nincs lehetőség. Segíthet a válasz keresésében annak szem előtt tartása, hogy a módosítások nem egyesével, hanem egymással változatos kombinációkban találhatók. Egy foszfátcsoport a szerinen együtt egy acetilcsoporttal valamelyik szomszédos lizinen mást jelent, mint ha egy metilcsoport található valahol a közelében. Gyakran használt az egyszerűsítő érvelés, hogy az acetiláció a kromatinszerkezet lazulását segíti, ezért a géntírást fokozza. Ezzel ellentétben, a metilcsoportok pedig a kromatinszerkezet tömörödésének kedveznek. Bár általában mindkét megállapítás igaz, mindkettő túlzottan egyszerűsítő képet sugall. Lizin oldalláncon metilációja nem is eredményez olyan töltésváltozást, ami kromatinszerkezet-változást indíthatna el. A magyarázat a hatásra a hisztonmódosítások jel szerepében rejlik: a módosítások nemcsak a töltések megváltozása miatt hatnak, hanem közvetetten is, fehérjék odatoborzásával a nukleoszómák felületéhez. Általánosabban tekinthető az a megfigyelés, hogy a módosítások csoportokba rendezhetők. Vannak olyanok, amelyek például a géntírást szabályozásban játszanak szerepet és ezek között alcsoportok képezhetők azokból, amelyek az átírással kerülő gént megelőző DNS-részen, az RNS-szintézis kezdeténél, vagy befejező részénél fontosak. A hasonló szerepet játszóknak gyakran együtt fordulnak elő, esetenként helyettesíthetik egymást. A teljes genomokra kiterjedő kromatin tájképek RNS-szintézisre és hisztonmódosításra mintázatra vonatkozó adatainak összevetésével már sikerült azonosítani azt a három-négy módosítástípust, amelyek kombinációja jó korrelációt mutat a géntírást gyakoriságával (3. ábra). Ez természetesen nem zárja ki azt a lehetőséget, hogy egyik, vagy másik módosítás használatával ma még nem felismert finom különbségek érhetőek el akár a génműködés helyét, idejét vagy intenzitását tekintve.

A kromatinjelzések írói, olvasói és radírjai is fehérjék

A módosítások kapcsolódási helyeket kínálnak a fehérjéknek. A kapcsolódó fehérjék megerősíthetik a hisztonok és a DNS kötődését, vagy éppen fordítva, lazíthatják azt. Egy fehérje kapcsolódása egy adott módosított hiszton oldallánchoz segítheti további fehérjék odatorzítását, megjelölheti a DNS sérüléseit, a kromatin adott részen szorosabb vagy lazább szerkezet kialakításával módosíthatja az ott található gének szabályozását. Gyakran egy adott módosításhoz kapcsolódó fehérje egy sok alegységes komplex egyik tagja. A komplex tagjai változatos funkciójú faktorok lehetnek, amelyek a kapcsolódással kromatinközelbe kerülnek. Sokszor a jelzéseket felismerő és azokhoz kapcsolódó fehérjék maguk is képesek módosításokat elhelyezni a kromatinon. Működésük alapján ezeket a fehérjéket a kromatinjelzések íróinak tekintik. Enzimekként ezek acetil- és metiltranszferázok, kinázok és más enzimsoportok tagjai. Ellentétes működésű enzimpárjaik a de-acetilázok, de-metilázok, foszfatázok, a kromatinjelzések radírjai. A két enzimsoport dinamikus együttműködése biztosítja, hogy a kromatintérkép jelzései folyamatosan napra-, bár sokkal helyesebb az állítás, hogy pillanatra készek. A jelzéseknek az a része, amelyik csak rövid időre szóló génműködés-módosításra szolgál, gyorsan kitörölődik. Ilyenek leggyakrabban az acetilációval létrehozott jelek. Ezeknek csak pár perc az élettartama. A metilációk egy része ezzel ellentétben napokig, vagy még hosszabb időszakon át fennmarad – pontosabban megújításra kerül, az egymást követő sejtosztódások sorozatán át is. Abból a tényből, hogy a módosításokat enzimek hozzák létre, már sejthető, hogy az enzimek működésére jellemző specifikusság a módosítások kialakítása és eltávolítása során is érvényesül. Valóban ez a tapasztalat, bár e tekintetben is, mint a hatásoknál tapasztalható, széles skálán változik a szigorúság: van olyan enzim, amelyik csak egy hisztonnak egy adott helyzetű aminosav-oldallancát módosítja. De van olyan is, ami kevésbé változatos – pontosabban megújításra kerül, az egymást követő sejtosztódások sorozatán át is. Abból a tényből, hogy a módosításokat enzimek hozzák létre, már sejthető, hogy az enzimek működésére jellemző specifikusság a módosítások kialakítása és eltávolítása során is érvényesül. Valóban ez a tapasztalat, bár e tekintetben is, mint a hatásoknál tapasztalható, széles skálán változik a szigorúság: van olyan enzim, amelyik csak egy hisztonnak egy adott helyzetű aminosav-oldallancát módosítja. De van olyan is, ami kevésbé változatos – pontosabban megújításra kerül, az egymást követő sejtosztódások sorozatán át is.



3. ábra. A gének működését „finomhangoló” hiszton-kód. A legjellegzetesebb hiszton-jelzések egy aktívan működő (fent) és nem működő (lent) gént tartalmazó kromatinrészén. A felső részen a nyíl a gén átírásának kezdőpontját jelzi. (A hisztonmódosítások az aminosavak egybetűs jelölésével szerepelnek: K = lizin, me = metil-, ac = acetil, csoport.)

hisztonmódosításra sikerült előállítani specifikus ellenanyagot, amelyek rendkívül fontos szerepet kapnak a kromatinszerkezet vizsgálatában.

A hisztonmódosítások kombinációi a génműködés-szabályozás fokozatkapcsolói

A módosítások szerepéről eddig szerzett ismereteink alapján úgy tűnik, hogy a természet csak nagyon ritka esetben használ egy-egy módosítást egyedüli jelként valamilyen működés biztosítására. Tíz évvel ezelőtt, amikor a hisztonmódosítások gazdag világa kezdett feltárulni, sokan úgy gondolták, hogy a módosítási mintázatok a kresztáblákhoz hasonlíthatóan, jól meghatározott, egységes jelrendszert alkotnak. Az ún. hiszton-kód hipotézis szerint a nukleoszómában elhelyezkedő hisztonfehérjék amino-terminális részein létrejövő módosítások jelrendszert képeznek. A kódot a módosítások kombinációit felismerő, az az azokhoz kapcsolódó fehérjék értelmezik azáltal, hogy kapcsolódásukkal a nukleoszómák átrendezését vagy eltávolítását okozzák. Ez a gének átírásának lehetőségét növeli, vagy csökkenti. A kromatinkutatás utóbbi tíz éve során óriási mennyiségű adat halmozódott fel az egyes módosítástípusok előfordulásáról és szerepéről. A kirajzolódó kép szerint az eredeti hiszton-kód hipotézis pontosítható. Kétségtelen, hogy a hisztonok módosításai jelzésként szolgálnak, és ezeket a jelzéseket kap-

csolódó fehérjék értelmezik. Nem képeznek azonban a hisztonmódosítások olyan egyértelműen meghatározott kódrendszert, mint amilyen a nukleotidszám és aminosavak viszonyára jellemző. A mai elképzelésünk szerint a kromatinmódosítások meghatározzák azt, hogy egy-egy sejtípusban mely gének működhetnek és melyek vannak kikapcsolt állapotban. Egy-egy jelzés önmagában általában nem jelent „ki-be” kapcsolót. Sokkal inkább a jelzések összessége határozza meg a végeredményt. Egy-egy jelzéstípus mint finomhangoló működik. A hisztonjelzések változásai együttesen biztosítják, hogy a környezeti hatásokra gének ki- és bekapcsolnak, egyes esetekben csak egészen rövid időre, más alkalmakkor sejtek generációin át, vagy akár nemzedékről nemzedékre továbbadva állapotukat. Az egyedfejlődés során, amíg a megtermékenyített petesejtől a kifejlett szervezet kialakul, a módosítások folyamatos alakulása biztosítja, hogy az azonos DNS-nukleotidszám ellenére, az egyes szövetek sejtjeinek génműködése oly jellegzetesen eltérő. Környezeti hatások a sejt jelátviteli rendszerén át jutnak el a nukleoszómák jeleit író, olvasó és kitörölő fehérjékhez. Ezek aktivitásában tükröződik a sejt fiziológiás állapota is. Erre közvetlen lehetőséget ad az, hogy a leggyakrabban előforduló módosító csoportok a sejtanyagcsere csomópontjaiban képződő molekulákról (acetil-CoA, S-adenozil-metionin, ATP) vihetők át hisztonok aminosav-oldallancáira. Egyre több adat bizonyítja epigenetikai hatások szerepét sejtek és egyedek szintjén is. Naponta jelennek meg közlemények az epigenetikai hatások felteletett szerepéről az emberi tulajdonságok legszélesebb körében a fizikai képességektől a magatartásbeli hajlamokig, készségeikig terjedően. Ellentétben a nukleotidszámokban bekövetkező változásokkal, amelyek megfordíthatatlanok, az epigenetikai jelek stabilitásuk ellenére módosíthatók. Kialakulásuk, hatásuk és megváltoztatásuk lehetőségeinek feltárása ezért messzire mutató távlatokat nyithat önmagunk megismerésében és bajaink orvoslásában.

Köszönetnyilvánítás

A cikk első részének 1. ábráján részlet látható Ottlik Géza Iskola a határon c. regényének Esterházy Péter által egyetlen oldalra másolt szövegéből. <http://www.irodalmijelen.hu/05242013-1036/esterhazy-otlik-az-iskola-atirai-poster>

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.