

EPIGENETİK

Hafta 2: Epigenetik mekanizmalar 1

DNA metilasyon mekanizmaları

Memelilerde metil-CpG tanınması ve demetilasyon

Histon modifikasyon mekanizmaları

Kodlamayan RNA epigenetiđi

Dr Öğr Üyesi Arzu ATALAY

Memeli hücrelerinde transkripsiyon başlangıcı ana olarak 3 sınıfa ayrılır:

- 1) Promotor gücü ve çekirdek transkripsiyon düzeneginin mevcudiyeti/kullanılabilirliği
- 2) Promotor spesifik transkripsiyon faktörlerinin hareketleri
- 3) Kromatin yapısının değiştirilerek DNA'nın ulaşılabilirliğinin kontrol edilmesi (Histonların transkripsiyon sonrası modifikasyonları ve replikasyon sonrası DNA'nın modifikasyonu son zamanlarda yoğun bir biçimde çalışılmaktadır)

Nükleozomlar ökaryot kromatinin temel yapı taşlarındandır ve histon oktameri etrafına iki kez sarılmış 146 bç DNAdan oluşurlar. Histonlar ağırlıklı olarak N-terminallerinden pek çok histon modifiye edici enzimle işaretlenirler.

Memeli ve diğer omurgalılarda **DNA metilasyonu sitozinin C5 pozisyonunda, çoğunlukla CpG dinükleotidlerinde**, gerçekleşir. DnmT enzimi korunmuş bir mekanizma ile bunu gerçekleştirir. S-adenosil-metionindeki metil grubu sitozindeki aktive edilmiş C5e kovalent olarak bağlanır.

Bu epigenetik etki etki pek çok biyolojik sürecin idamesi için gereklidir: genomik imprinting, gen susturulması, X-kromozom inaktivasyonu, transfer edilen çekirdekteki yeniden programlama, bazı karsinogenez temelleri, DNA tamiri, seksüel dimorfizm, hücre bölünmesi , memeli genomundaki pek çok transpozon ve retroviral elementin baskılanması

Memeli DNA Metil transferazlar:

Memelilerde DNMTlar iki ailedeki birbiri ile fonksiyonel ve yapısal olarak farklı olan 3 üyeden oluşmaktadır.

Dnmt3a ve **Dnmt3b** *de novo* olarak ilk CpG metilasyon paternini oluştururken, **Dnmt1** kromozom replikasyonu ve tamir sırasında bu paterni idame ettirir. İdame metiltransferaz olan Dnmt1'in hemimetile bölgelerde 30-40 kat daha fazla tercih edilir. Ancak Dnmt1 aktivitesi bazen non CpG bölgelerdeki *de novo* metilasyon için de gerekli olabilmektedir.

Dnmt3 ailesi iki aktif *de novo* Dnmt (Dnmt3a ve Dnmt3b) ve bir düzenleyici proteinden (DnmtL) oluşmaktadır. Dnmt3a ve Dnmt3b benzer motif yapılarını içerir.

Dnmt3L *de novo* DNA metilasyonu için gerekli bir düzenleyici proteindir. Dnmt3a ve Dnmt3L C-terminal motifleri Class I Ado-Met bağımlı metiltransferazların karakteristik yapısını göstermektedirler. Ancak bu iki proteinin oluşturduğu aktif kompleksteki katalitik birim Dnmt3a'dır.

Dnmt3a-DnmtL C-terminal kompleksi yaklaşık 16 nm büyüklüktedir ve 11 nm olan nükleozom çapından büyüktür. Bu komplekste 2 Dnmt3a, 2 DnmtL bulunur ve iki 3L-3a ve 1 3a-3a arayüzü oluştururlar. Buradaki anahtar katalitik reziduların değiştirilmesi enzimatik aktiviteyi etkiler.

UHRF1in SRA alanı DNA heliksten 5-metilsitozini çıkarır

UHRF1 (ubiquitin-like, containing PHD and RING finger domains 1), hemimetile replikasyon çatalları ve tamir edilen yerlerde Dnmt1i hedefleyen bir adaptör proteindir. Fare ortologu NP95, insan ortoloğu ICBP90 olarak adlandırılmıştır.

UHRF1de yer alan SRA (SET ve RING associated) domain ve hemimetile CpG içeren DNA yapısının kristalografisi bilgisine göre, SRA alanı 5-mCi DNA heliksten tamamı ile çıkarır.

Base flipping (baz çıkarımı) DNA metitransferazlar, DNA tamir enzimleri ve RNA modifikasyon enzimleri tarafından sıkca kullanılır.

Bakteriyel 5mC Mtase HhaI ve UHRF1 aynı işi yapmalarına karşın tamamı ile farklı yapıdadırlar.

5mC baz çıkarımı metile paternal ipliği demetile yavru iplikten farklı olduğunun anlaşılması sağlar, ki bu da DNA replikasyonu sırasında tamir için önemlidir. Nitekim insan ortologu olan ICBP90ın ifadeinin kanserde deregüle olduğu gözlenmektedir. SRA-DNA interaksyonu UHRF1i hemimetile CpG bölgelerinde tutarak idame metiltransferaz olan Dnmt1i buralara yönlendirir.

PDB ve Tudor alanı histon ile interaksyonu sağlar.

DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları replikasyon ilişkili süreçlerle beraber gerçekleşir

UHRF1 polipeptidi, üzerinde hem DNA sessizleştirme işaretlerini (SRA) hem de histone sessizleştirme işaretlerini tanıyan (Tudor and/or PHD) alanlar yer aldığından bu işaretlerin kalıtlanması için hücredeki temel bileşendir.

- Hidroksilasyon ile DNA demetilasyonu
- Glikozilasyon ile DNA demetilasyonu
- Dnmt2...

- Prolin izomerizasyonu (Prolinin izomer oluşturması H3P30 ve H3P38, bu konformasyonel değişim H3K36 metilasyonu için gereklidir)
- Sumolasyon (Small Ubiquitin-related Modifier protein) SUMO, ubikitinasyon gibi kovalent olarak eklenir, 100aa lik bir moleküldür. Histon sumolasyonuasetilasyon ve ubikitinasyon gibi işaretlelerle etkileşerek transkripsiyonu baskılar
- Ubikitinasyon (76 aalık molekül) post-translasyonel modifikasyon, mono, di, tri olabilir. Poliubikitinasyon protein yıkımı için işaretken, monoubikitinasyon protein fonksiyonunu düzenler (H2A; H2B ubikitinasyona uğrayabilir. transkripsiyonel aktivasyonda rol oynayabilir , H3K4)
- ADP-ribozilasyonu , post translasyonel modifikasyondur. Tüm nüve histonlar ve H1 histon genotoksik stres veya hucre siklusu sırasındaki fizyolojik değişimler veya farklılaşma sırasında mono-ADP-ribozilasyona uğrar.
- Fosforilasyon. Histonlar genelde serin bazen de tirozin aalerinden fosforile olur. Pek çok farklı protein kinaz tarafından gerçekleştirir. Trankripsiyonun düzenlenmesi, DNA hasarının tamirinde rol oynar
- Metilasyon: Histon metilasyonu arginin ve lizinlerde gerçekleşir. 3 grup histon metiltransferaz mevcut (HMT) , farklı aaleri metillerler. Histon metilasyonu transkripsiyonel regulasyonda rol oynamaktadır. H3K4me, me2,me3 aktif promotorlarda yer alırken, H3K36me2/me3 transkripsiyon elongasyonu ile ilişkilidir vb. DNA tamirinde de rol oynar

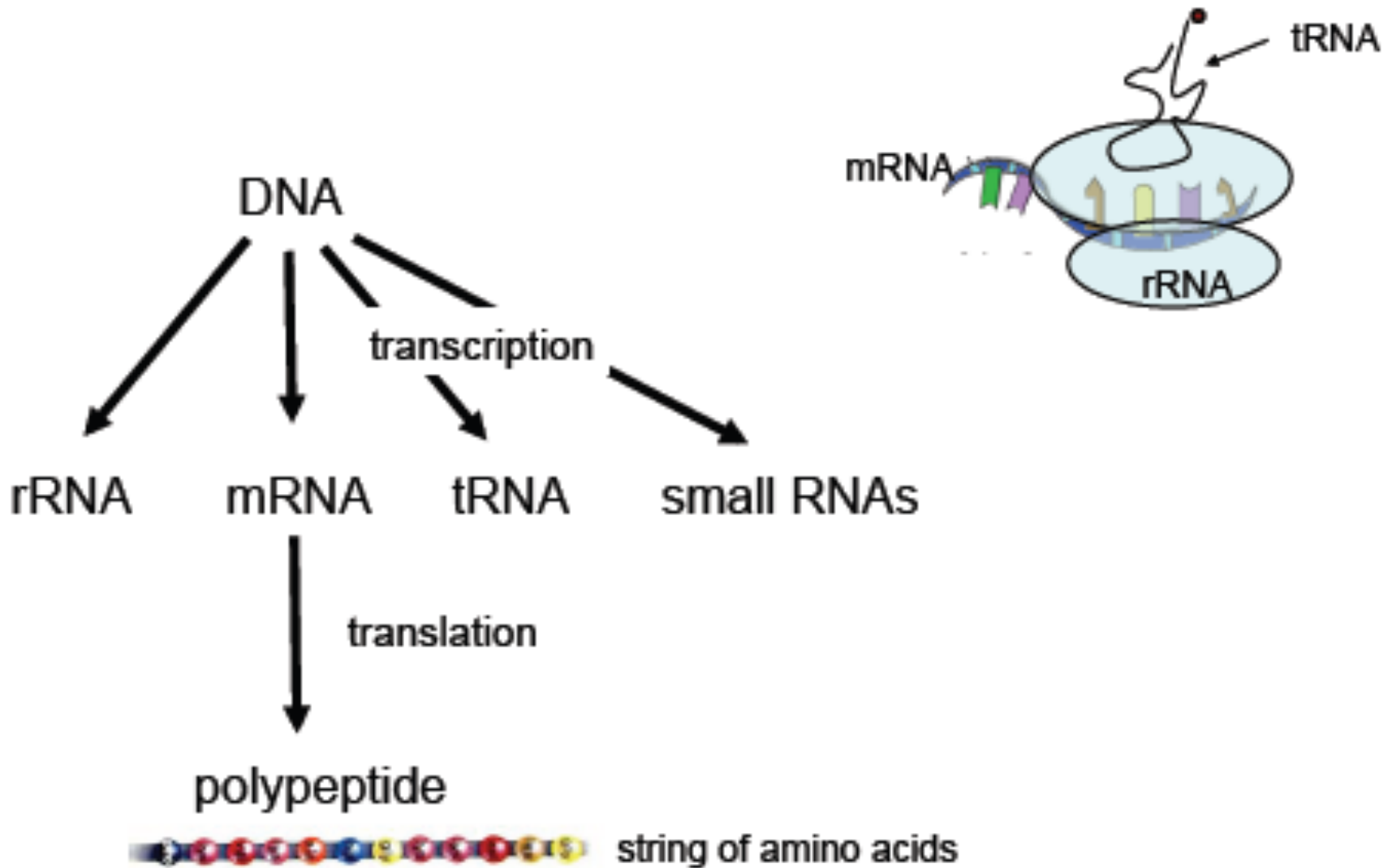
- Asetilasyon: Transkripsiyon, DNA hasar tamiri ve replikasyon. HAT enzimlerince gerçekleştirilir. Bu enzimler iki farklı şekilde sınıflandırılır (Nukleer-sitoplazmik ve fonksiyonlarına göre) Fonksiyonlarına göre bazı alanların (zinc finger, kromodomain, bromodomain) varlığı önemlidir. GNAT ailesi, MYST ailesi, p300/CBP, HAT kompleksleri
- Histon deasetilazlar, (HDAC) iki aileden oluşur (SirT vb) transkripsiyonel regülasyon ve DNA tamirinde rol alırlar

Kovalent modifikasyonlar ve bazı histon varyantları spesifik biyolojik görevlere işaret eder

Histon kodu farklı anlamlara gelmektedir

Non-coding RNA genlerden transkribe olan ancak proteine çevrilmeyen RNAlardan oluşur. Pek çoğu diğer RNAların işlenmesi ve düzenlenmesinde rol oynar.

Non-coding RNA genlerden transkribe olan ancak proteine çevrilmeyen RNAlardan oluşur. Pek çoğu diğer RNAların işlenmesi ve düzenlenmesinde rol oynar.



miRNAlar ve imprinting

IG-DMR bölgesinin metilasyonu (Paternal kromozom) Rtl1 antisense transkriptinin baskılanmasına ve sonrasında Rtl1 transkriptinin ifade olmasına yol açar.

Metilasyon olmazsa (Maternal iplik), Rtl1 antisense iplikten miRNAlar sentezlenir ve Rtl1 transkriptine kısmi bağlanarak Rtl1'in yıkımına sebep olurlar

- (A) XCI öncesi , Tsix yüksek seviyede ifade olur ve kendisinin ve Xist geninin H3-K4 dimetilasyonunu indükler, böylelikle Xist ve Tsix aktif transkribe olur. Rasgele XCI başlamasına yolaçar.
- (B) XCI sırasında, Xist in 1. intronundan pluripotency faktörlerinin uzaklaştırılmasını takiben Xist ifadesi artar. Xist RNA Xi bölgesini kaplayarak kromatin baskılayıcı kompleksi (CRC) Xi ye yönlendirir. Xist RNAsı Tsix ile de RNA duplex oluşturur, Dicer tarafından 24-42 nt lik XiRNAlara çevrilir. XiRNAlar H3K27me3 ve H4K20me oluşumunda rol oynar. Xi statüsü PCr2 polycomb repressive kompleks tarafından idame ettirilir.
- (C) Xa 'da ise Tsix Dnmt3a ile birleşir ve Xist Xist promotorunda metilasyonu sağlar. Böylece X bağımlı genler ifade olur.