

NUKLEOSOMY I REGULACJA AKTYWNOŚCI CHROMATYNY*

NUCLEOSOMES AND REGULATION OF CHROMATIN ACTIVITY

Maria Joanna OLSZEWSKA

Katedra Genetyki Ogólnej, Biologii Molekularnej i Biotechnologii Roślin,
Uniwersytet Łódzki

Streszczenie: Nukleosomy są podstawowymi strukturami chromatyny powodującymi u Eukaryota represję aktywności transkrypcyjnej, ponieważ ograniczają dostęp do DNA czynników wiążących się z nim. Pierwszy poziom kondensacji (zwartości) polega na owinięciu DNA o długości 147 pz wokół oktameru histonowego, co utrudnia dostęp do DNA czynników wiążących się z nim w większym stopniu niż do DNA łącznikowego (linkerowego). Nieowinięty DNA ma długość 20–50 pz. Następnym etapem kondensacji nukleosomów jest przyłączenie łącznikowego histonu H1, w wyniku czego tworzą się włókna 30 nm. Zróżnicowana kondensacja chromatyny interfazowej jest ważna dla właściwego funkcjonowania genomu. Gęstość rozmieszczenia nukleosomów wzdłuż DNA jest różna, w zależności od organizmu i zależy od funkcjonalnych właściwości chromatyny. W transkrypcyjnie aktywnej euchromatinie gęstość ta wynosi 6 nukleosomów/11 nm, podczas gdy w nieaktywnej heterochromatinie aż 12–15 nukleosomów/11 nm. Regiony genomu pozbawione nukleosomów znajdują się zwykle blisko promotora. Nukleosomy wykazują pewne preferencje wobec sekwencji DNA. Fragmenty DNA zawierające polidy(AT:dT) są ubogie w nukleosomy. Umieszczenie nukleosomów jest kontrolowane przez szereg czynników. Należą do nich m.in. struktury w DNA i w chromatynie, które powstały w wyniku działania czynników remodelujących chromatynę oraz epigenetycznych modyfikacji DNA i histonów, takich jak: metylacja DNA, potranslacyjne modyfikacje histonów i ich warianty. N-terminalne ogony histonów rdzeniowych pełnią liczne niezależne funkcje. Właściwe umiejscowienie nukleosomów ma istotne znaczenie dla ekspresji genów. W wyniku doświadczeń, w których usuwano ogony histonów rdzeniowych, wiadomo, że determinują one na poziomie molekularnym umiejscowienie nukleosomów. Ogony histonów rdzeniowych biorą udział w kondensacji wyższego rzędu układów nukleosomowych. Włókno 30 nm stanowi pierwszy poziom kondensacji układów nukleosomowych; tylko nieznaczne ilości chromatyny wykazują taką strukturę. W strukturach wyższego rzędu kontakt między przyległymi nukleosomami odbywa się za pośrednictwem N-terminalnych ogonów histonów rdzeniowych oraz współdziałania między nimi. Nasilenie kondensacji chromatyny zależy od rodzaju modyfikacji histonów. Wiadomo, że acetylacja histonów rdzeniowych powoduje dekondensację chromatyny. Trimetylacja niektórych reszt lizynowych, np. 20. w H4, następuje w nieaktywnej transkrypcyjnie chromatynie i jest typowa dla wysoce skondensowanej, nieaktywnej heterochromatyny. W regulacji kondensacji chromatyny i ekspresji genów mogą uczestniczyć warianty histonu rdzeniowego H2A, a mianowicie H2A.Z, H2A.v, H2A.Bbd i H2A.Bdb. U *Saccharomyces cerevisiae* utrata H2A.Z jest tolerowana, ale jest

*Praca finansowana z badań statutowych Uniwersytetu Łódzkiego nr 506/040096.

zakłócona regulacja ekspresji genów. Brak jest H2A.Z w chromatynie konstytutywnej, ale jest ona obecna w tzw. heterochromatynie fakultatywnej. H2A.v występuje zarówno w eu-, jak i w heterochromatynie. Jego rola w stabilizacji chromatyny wydaje się polegać na tworzeniu chromatyny skondensowanej. Ostatnio wiedza o kondensacji chromatyny została wzbogacona o wyniki badań zgrupowania siedmiu reszt aminokwasowych kwaśnych (ang. *the acidic path*), obecnych głównie w H2A. Ten szlak kwasowy może współdziałać z N-terminalnym ogonem histonu H4 (reszty 14.–19.) z jednego nukleosomu z przyległym nukleosomem, kiedy układ nukleosomowy jest zwinięty we włókno 30 nm. Kwasowy szlak w H2A może być zmodyfikowany w niektórych jego wariantach. H2A.Bbd ma tylko trzy kwaśne aminokwasy w szlaku kwasowym. Ten wariant hamuje tworzenie włókna 30 nm. W wyniku zahamowania tworzenia włókna 30 nm, H2A.Bbd wzmacnia transkrypcję. Z drugiej strony, H2A.Z sprzyja tworzeniu włókien 30 nm dzięki obecności dwóch dodatkowych reszt aminokwasowych, które poszerzają trakt kwasowy w H2A.Z w porównaniu z H2A. Ponieważ H2A.Z jest obecny w heterochromatynie fakultatywnej (skondensowanej euchromatynie), jest możliwe, że ten wariant uczestniczy w kondensacji euchromatyny. Zwartość chromatyny jest modyfikowana przez zależne od ATP kompleksy remodelujące chromatynę, ATPazy. Zużywają one energię hydrolizy ATP, aby przemieścić nukleosomy w różne miejsca wzdłuż DNA. Czynniki remodelujące chromatynę mogą działać zarówno jako kondensujące, jak i decondensujące. ATPazy remodelujące chromatynę odgrywają istotną rolę w procesach fizjologicznych i w rozwoju u Eukaryota.

Słowa kluczowe: nukleosomy, N-terminalne ogony histonów rdzeniowych, warianty H2A, kondensacja chromatyny.

Summary: Nucleosomes are the basic structures of chromatin and constitute a general repressor in Eukaryote due to the compaction of DNA which limits its accessibility to DNA-binding factors. The first level of compaction consists in wrapping the DNA 147 bp long fragments around a histone octamer, which makes this DNA less accessible to the DNA binding factors than the linker DNA. The unwrapped linker DNA is 20–50 bp long. Nucleosomes further condense by linker histones H1 to form a 30 nm fiber. Differential compaction of the interphase chromatin is important for proper functioning of the genome. Density of nucleosomes along DNA varies between organisms and depends on the functional properties of chromatin. In transcriptionally active euchromatin the density is 6 nucleosomes/11 nm while in inactive heterochromatin – as much as 12–15 nucleosomes/11 nm. Genomic regions that strongly exclude a nucleosome are often found near gene promoter. Nucleosomes have some DNA sequence preferences. DNA fragments containing poly(dAT:dT) elements are poor in nucleosomes. Several factors control nucleosome positioning they are, among others, structures in DNA and in chromatin which depend on the chromatin remodelers and epigenetic modifications of DNA and histones, such as DNA methylation, histone posttranslational modifications and histone variants. N-terminal tails of core histones perform several independent functions. The precise positioning of nucleosomes plays an important role in the regulation of gene expression. The core histone tail domains are molecular determinants responsible for positioning, as it has been demonstrated by the results of experiments in which the core histone tails were removed. In the condensation of nucleosome arrays into higher order chromatin structures, core histone tails take part. The 30 nm fiber constitutes the first order of folding of a nucleosome array. It represents only a minority of chromatin. In the higher order structures the contact between adjacent nucleosomes depend on core histone N-terminal tails and an interaction between them. The degree of compaction depends on the type of histone modifications. It is well known that core histone acetylation results in the decondensation of chromatin and is characteristic of transcriptionally active chromatin. Trimethylation of some lysine residues, e.g. lysine 20 in H4, marks transcriptionally inactive chromatin, and is typical of highly compacted transcriptionally inactive heterochromatin. Variants of the core histone H2A: H2A.Z, H2A.v, H2A.Bbd and H2A.Bbd can participate in the chromatin compaction and proper regulation of gene expression. In *Saccharomyces cerevisiae* loss of H2A.Z is tolerated, but the regulation of gene expression is affected. H2A.Z is excluded from constitutive heterochromatin, but present in so-called facultative heterochromatin. H2A.v is present both in eu- and heterochromatin. Its role in the chromatin stabilization seems to consist in the formation of condensed chromatin. New insight into how the folding process is regulated concerns the role of a cluster of seven amino acid residues (the acidic path) present mainly in H2A. This acidic path can interact with a basic N-terminal tail of histone H4 (residues 14–19) from one nucleosome with an adjacent nucleosome when nucleosomal arrays fold into the 30 nm fiber. The acidic path in H2A can be modified in some H2A variants. H2A.Bbd has three acidic residues within the acidic path. This variant inhibits the formation of 30 nm chromatin fiber. As a result of inhibiting the

formation of 30 nm fiber, H2A.Bbd enhances transcription. On the other hand, H2A.Z promotes the formation of 30 nm fiber on account of the presence of two additional amino acid residues which extend acidic path of H2A.Z compared to that of H2A. As H2A.Z is present in the facultative heterochromatin (condensed euchromatin), it is possible that this histone variant participates in the condensation of euchromatin. The compactness of chromatin is modified by ATP-dependent chromatin-remodeling complex, ATPases. They use the energy of ATP hydrolysis to move nucleosomes to different localizations along the DNA. Chromatin remodelers can act both as chromatin condensing and decondensing factors. Chromatin remodeling ATPases play an important role in physiological and developmental processes in eukaryotes.

Key words: nucleosome, N-terminal tail of core histone, H2A variants, chromatin compaction.

1. WSTĘP

Od lat 70. wiadomo, że podstawowa struktura chromatyny przypomina koraliki na sznurku. Nukleosom to koralik, zaś sznurek – łącznikowy DNA. Taki model opracowany w 1974 r. przez Kornberga (Nagroda Nobla) został powszechnie przyjęty i jest opisywany w wielu podręcznikach. Przypominamy, że wokół okta-merów histonów rdzeniowych owinięty jest DNA o długości ok. 146–147 pz, tworząc łącznie z histonami rdzeniowymi nukleosom. W skład histonów rdzeniowych wchodzi po dwie cząsteczki H3, H4, H2A i H2B. Nukleosomy są połączone łącznikowym (linkerowym) DNA, który z kolei jest związany z łącznikowym histonem H1. Całość ta bywa niekiedy nazywana chromatosem i stanowi włókno 10 nm. Długość DNA łącznikowego wynosi od 0 do 70 pz [15, 41]. Owinięcie DNA wokół nukleosomu utrudnia dostęp do DNA większości wiążących się z nim białek. Na umiejscowienie nukleosomów wzdłuż DNA łącznikowego mogą wpływać preferencje w odniesieniu do określonych sekwencji, metylacja DNA, jak również i stan histonów rdzeniowych, tj. ich modyfikacje potranslacyjne i warianty [34]. Zagadnienie to zostanie omówione w dalszej części artykułu, podobnie jak struktura 30 nm włókna chromatynowego, która jest ważnym czynnikiem determinującym regulację transkrypcji u Eukaryota. Należy zaznaczyć, że obecnie – poza badaniami *in situ* i *in vitro* – rozwijane są badania rekonstruowania chromatyny z DNA o znanej sekwencji.

2. STRUKTURA WŁÓKIEN 10 nm i 30 nm

Pierwszy szczebel organizacji chromatyny stanowi struktura o szerokości 10 nm zawierająca nukleosomy i DNA łącznikowe. Włókno 30 nm, dawniej zwane solenoidem, stanowi drugi szczebel organizacji chromatyny, po którym mogą następować dalsze zmiany struktury chromatyny prowadzące do jej kondensacji.

Ogony histonów rdzeniowych odgrywają istotną rolę w tworzeniu struktur chromatynowych (por. także niżej). Wykazano, że N-terminalny kraniec ogona H4 uczestniczy, podobnie jak ogon H3, w kontaktach z DNA. Ogon H4 bierze udział w stabilizacji skręcania DNA wokół nukleosomu [17].

Gęstość upakowania nukleosomów zależy od sekwencji DNA, co bywa związane z rodzajem chromatyny. Wynosi ona od 9 do 12 nukleosomów na 11 nm. Z reguły

zagęszczenie nukleosomów jest większe w heterochromatynie i w nieaktywnej transkrypcyjnie chromatynie. W aktywnej transkrypcyjnie euchromatynie zagęszczenie wynosi 6 nukleosomów/11 nm, zaś w heterochromatynie – 12–15 nukleosomów/11 nm.

Od dawna wiadomo, że długość łącznikowego DNA *in vivo* jest zwykle wielokrotnością 10 pz. Typowe podstawowe włókno to układ helikalny nukleosomów o średnicy 30–32 nm i długości łączników rzędu 30–60 pz; długość ta jest określana jako liczba pz między rdzeniem sąsiadujących nukleosomów.

Integralnym składnikiem włókna 30 nm jest bogaty w lizynę łącznikowy histon H1, chociaż nie jest on konieczny dla powstania takiego włókna (ref. [32]). Histon ten jest specyficzny gatunkowo i wielokrotnie opisywany w literaturze podręcznikowej. Ostatnio ukazał się w *Postęпах Biologii Komórki* artykuł [15], w którym ze szczególnym uwzględnieniem roślin zostały podane najnowsze dane dotyczące H1. Histon ten nie jest niezbędny dla przeżycia organizmu, ale zarówno u myszy, jak i u rzodkiewnika obniżona zawartość H1 poniżej pewnej granicznej wartości powoduje nieprawidłowości w strukturach chromatyny wyższego rzędu, związane z zakłóceniem metylacji DNA [15].

Na podstawie wyników badań rekonstruowanych układów nukleosomowych, o długości 167 i 197 pz ustalono, że zawartość włókien chromatynowych, wynikająca ze stopnia skrócenia długości układów nukleosomowych, zależy od jej długości. Tylko układy długości 197 pz mogą tworzyć z włókna 30 nm struktury chromatyny wyższego rzędu. Układy nukleosomowe długości 167 pz tworzą struktury węższe, średnicy 21 nm, zaś włókna powstające z układów 197 pz mają średnice 33–35 nm. Dzieje się tak, ponieważ krótkie układy dają początek upakowanym w stos strukturom nukleosom-nukleosom, mało dostępne dla histonów łącznikowych [32].

3. KONTROLA USYTUOWANIA NUKLEOSOMÓW WZDŁUŻ DNA

Wyjaśnienie mechanizmu, który kontroluje umiejscowienie nukleosomów wzdłuż DNA, jest istotne dla zrozumienia wiązania i działania białek o funkcji genetycznej. Poza wymienionymi wyżej, bierze się również pod uwagę działania czynników transkrypcyjnych, remodelujących chromatynę i innych białek wiążących się z DNA. Należy przypomnieć, że aż 75–90% DNA owija się wokół oktameru histonowego, a kolejne nukleosomy są od siebie oddzielone przez DNA długości 20–50 pz. Zatem ograniczona liczba nukleosomów może uczestniczyć we współzawodnictwie między różnymi regionami DNA [18, 34].

4. PREFERENCJE NUKLEOSOMÓW W ODNIESIENIU DO OKREŚLONYCH SEKWENCJI DNA

Genomowe regiony kluczowe dla regulacji transkrypcji, w tym liczne promotory i miejsca wiążące czynniki transkrypcyjne, zawierają obniżoną liczbę nukleosomów, co sugeruje, że obniżenie ich liczby w tych miejscach jest częściowo zakodowane w genomie przez obecność takich sekwencji, które nie są preferowane przy wiązaniu

nukleosomów. Zdolności do zgięcia DNA stanowią jeden z elementów faworyzujących poszczególne dinukleotydy w każdym obszarze helikalnym wokół nukleosomu; właściwość ta zależy m.in. od sąsiednich nukleotydów [18] (ref. [34]).

Negatywne preferencje stwierdzono w odniesieniu do odcinków długości 10–20 pz lub więcej, zawierających A w jednej nici i T w drugiej. Prawdopodobnie elementy poly(dA:dT) są sztywne i zatem szczególnie odporne na zgięcia [7,18].

U drożdży *Saccharomyces cerevisiae*, podobnie jak u wyższych Eukaryota, tworzenie nukleosomów w regionie promotora jest zahamowane w większym stopniu niż w regionie kodującym. Wbrew dawniejszym przypuszczeniom wydaje się, że u drożdży nie ma specyficznych motywów odpowiedzialnych za tworzenie nukleosomów [27]. W sprzeczności z tym stwierdzeniem są wyniki uzyskane również u *Saccharomyces cerevisiae*, w myśl których poszczególne klasy genów wykazują charakterystyczny układ nukleosomów, NPS (ang. *Nucleosome Positioning Sequences*), co może być ważne dla ich regulacji [16].

U prymitywnego organizmu *Caenorhabditis elegans*, przedstawiciela *Metazoa*, współistnieją rozmaite wzory umiejscowienia nukleosomów. Stwierdzono jednak, że są miejsca w genomie wyraźnie preferowane przez nukleosomy, co powoduje prawie jednakowe odległości między nimi. Zakres lokalnej zmienności rozmieszczenia nukleosomów wydaje się być cechą charakterystyczną poszczególnych stref genomu u *C. elegans* [39]. Metylacja cytozyny w trinukleotydzie CpG, charakteryzująca chromatynę nieaktywną transkrypcyjnie, może zmniejszać zdolność DNA do zginania się w większym rowku przy zmetylowanym CpG (ref. [35]).

Potranslacyjne modyfikacje histonów, niezależnie od rodzaju modyfikacji, nie zmieniają wysokiego powinowactwa sekwencyjnego. Natomiast nukleosomy zawierające warianty histonów mogą mieć zmienione współdziałanie z DNA, co mogłoby przejawiać się w zmianach preferowanych sekwencji DNA i umiejscowienia nukleosomów. Brak wiążących wyników uniemożliwia wyciągnięcie wniosków; wiadomo tylko, że preferencje sekwencyjne przez nukleosomy zawierające H2A.Z (por. 6) nie są zmienione [35].

Wydaje się, że wiele nukleosomów zmienia pozycję w zależności od warunków biologicznych, podczas gdy umiejscowienie wielu innych nukleosomów nie zmienia się. Jest prawdopodobne, że przemieszczanie nukleosomów jest generowane przez czynniki remodelujące chromatynę oraz przez przyłączenie czynników transkrypcyjnych [34].

5. ZWIĄZKI MIĘDZY MODYFIKACJAMI POTRANSLACYJNYMI HISTONÓW RDZENIOWYCH A STRUKTURĄ NUKLEOSOMÓW I WŁÓKIEN CHROMATYNOWYCH

Modyfikacje potranslacyjne histonów rdzeniowych – acetylacja i metylacja – stanowią bardzo istotny element zmian epigenetycznych. Modyfikacje te są szeroko omawiane w literaturze, z punktu widzenia regulacji ekspresji genów i szczególnie dobrze rozpoznane dzięki upowszechnieniu metod immunocytochemicznych (ref. [24, 26]).

Istnieje wiele mechanizmów molekularnych, dzięki którym zachodzi upakowanie nukleosomów w obrębie włókna. Jeden z nich, zależny od długości DNA łącznikowego, został omówiony wyżej. Kontakty między przyległymi nukleosomami są realizowane przez rozmaite współdziałania ogonów histonowych. Brak N-końcowych domen w ogonie histonów rdzeniowych uniemożliwia tworzenie włókien 30 nm (ref. [17]). Wiele cech struktury chromatyny może być odtworzonych *in vitro* z układami nukleosomów zawierającymi tylko DNA i cztery histony rdzeniowe. Metody takie, zainicjowane na przełomie XX i XXI w., są obecnie powszechnie stosowane w badaniach mechanizmów konstruowania chromatyny.

Wiadomo, że chromatyna, której histony rdzeniowe H3 i H4 ulegają acetylacji, staje się zdekondensowana, dzięki czemu umożliwiona jest transkrypcja (ref. [24]). Nawet wysoce zwarta heterochromatyna, potraktowana inhibitorem deacetylaz histonowych (trichostatyna) ulega dekondukcji i przybiera wygląd euchromatyny (ref. [1]).

Ogon histonu H4 jest istotny dla utworzenia gęsto upakowanej chromatyny wskutek współdziałania z kwasowym odcinkiem obecnym w dimerze H2A/H2B sąsiedniego nukleosomu we włóknie. Acetylacja lizyny 16. w H4 przeciwdziała takiej interakcji [1]. Inne mechanizmy związane z H2A prowadzące do kondensacji/dekondensacji chromatyny zostały opisane poniżej (por. 8).

Ogony histonów mogą także odgrywać rolę w zwijaniu włókna 30 nm w strukturze wyższego rzędu. Dzieje się tak np. po zastąpieniu lizyny przez kwas glutaminowy, umożliwiający neutralizację ładunku wynikłego z acetylacji (ref. [1]).

Odwrotny skutek, tj. rozluźnienie włókien chromatynowych zmontowanych *in vitro*, powoduje acetylacja lizyny 16. w H4. Znaczną rolę w regulacji układów nukleosomowych odgrywają N-terminalne ogony. Przeprowadzono badania montując *in vitro* układy nukleosomowe z oktamerów histonowych zawierających różne kombinacje ubytków aminokwasów i rozmaite modyfikacje w N-terminalnych ogonach. Takie histony montowano do układów DNA zawierających 61 tandemowych kopii, każda długości 202 pz. Włączanie H4 częściowo zacetylowanego w lizynie 16. powoduje dekondukcję. W mikroskopie elektronowym widać, że acetylacja powoduje ubytek całkowicie zwiniętych (skondensowanych) fibryli chromatynowych; dalsza dekondukcja jest osiągana przez usunięcie histonów łącznikowych [30]. Acetylacja domen w ogonach H2B lub H4 powoduje zahamowanie tworzenia struktur trzeciorzędowych [40].

6. ROLA HISTONU H2A I JEGO WARIANTÓW W REGULACJI STRUKTURY CHROMATYNY

Podstawowy histon H2A jest umiarkowanie lizynowy; składa się ze 129 aminokwasów. W centrum ogona krańca C znajduje się skupienie trzech aminokwasów kwaśnych (poz. 90–92), które – jak ostatnio to stwierdzono (por. niżej) – odgrywa znaczną rolę w regulacji struktury chromatyny.

Rozpoznano dotąd bliżej szereg wariantów sekwencyjnych H2A. Wśród nich są warianty sekwencyjne specyficzne gatunkowo oraz warianty H2A.Z, H2Av,

H2A.Bbdb i H2A.Bdb różniące się liczbą aminokwasów kwaśnych tworzących wspomniane skupienie.

Wykazano, że H2A.Z jest istotny dla przeżywalności *Tetrahymena thermophila*, *Drosophila melanogaster* i myszy. U drożdży *Saccharomyces cerevisiae* utrata H2A.Z jest tolerowana, ale zakłócona jest właściwa regulacja ekspresji genów (ref. [33]). U tych organizmów regiony promotorów są na ogół pozbawione nukleosomów, ale są oflankowane przez co najmniej jeden nukleosom z wariantem H2A.Z [13].

U ssaków szereg badań dotyczących H2A.Z wykonano nie tylko metodami molekularnymi, ale także immunocytochemicznymi, dzięki którym uzyskano dokładną informację o lokalizacji tego histonu. U ssaków H2A.Z może być przejściowym składnikiem nukleosomów lub zawsze występować w danej strukturze jądra. Ten drugi przypadek dotyczy przycentromerowej i centromerowej heterochromatyny człowieka i myszy. U myszy są dwa rodzaje satelitarnego DNA, z których jeden – dłuższy (major, monomer 234 pz) jest obecny w heterochromatynie przycentromerowej, a drugi – krótszy (minor, monomer 120 pz) występuje w samym centromerze. Badania immunocytochemiczne z zastosowaniem przeciwciał przeciwko H2A i H2A.Z przeprowadzono na rozciągniętych niciach chromatynowych, przy czym metodą FISH stwierdzano, że zawiera ona dłuższy lub krótszy satelitarny DNA, co pozwoliło na odpowiednie zaklasyfikowanie przynależności badanej nici chromatynowej. H2A.Z jest obecny w dłuższym satelitarnym DNA, ale – w przeciwieństwie do H2A – jego rozmieszczenie wzdłuż rozciągniętego włókna chromatynowego nie jest jednakowe: istnieją znacznych rozmiarów regiony, rzędów 50 nm lub dłuższe, które zawierają H2A.Z, bądź są go pozbawione. H2A.Z pokrywa $44 \pm 13\%$ powierzchni włókien, zaś H2A – $79 \pm 2\%$. W krótszym satelitarnym DNA obecnym w centromerze, zawsze znajduje się H2A.Z, obok H2A. Ten pierwszy pokrywa $21 \pm 20\%$ poszczególnych włókien, ten drugi – aż $86 \pm 6\%$. H2A.Z nie jest zlokalizowany w nukleosomach razem ze specyficznym dla centromerów białkiem CENP-A (zastępującym w centromerze histon H3, (ref. [23]), znajduje się bowiem między domenami zajętej przez CENP-A [11]. Jednak obecność H2A.Z nie jest związana z typową heterochromatyną, ponieważ u myszy, posługując się barwieniem immunocytochemicznym z użyciem przeciwciał przeciwko markerowi konstytutywnej heterochromatyny – H3K9 (zmetylowana lizyna 9.) i markerem euchromatyny – H3K4 (zmetylowana lizyna 4.) wykazano, że nukleosomy zawierające H2A.Z są bogate w H3K4 i mają zredukowaną ilość H3K9. Autorzy twierdzą zatem, że H2A.Z nie występuje w konstytutywnej heterochromatynie, ale należy zastrzec, że w innej niż heterochromatyna centromerowa i przycentromerowa [33].

Również zastosowanie metod molekularnych i immunocytochemicznych wykazało, że podczas spermatogenezy u myszy H2A.Z jest obecny w niskich ilościach podczas wczesnych stadiów, po czym jego zawartość zaczyna się zwiększać podczas pachytenu, osiągając maksimum w stadium okrągłych spermatyd. Następnie jest zlokalizowany wyłącznie w tzw. fakultatywnej heterochromatynie, tj. chromatynie skondensowanej powstałej z euchromatyny [10], co wskazuje na jego rolę w procesie tych przekształceń.

U *Drosophila*, podobnie jak u ssaków (por. wyżej) badania *in vivo*, *in situ* i *in vitro* dostarczyły sprzecznych wyników wskazujących zarówno na stabilizującą, jak i destabilizującą rolę H2Av dla struktury nukleosomów i stabilności układów oligonukleosomowych. U *Drosophila melanogaster* homolog H2A.Z, H2Av, jest obecny zarówno w regionach eu-, jak i heterochromatynowych (ref. [12, 33]). Mutanty H2Av wykazują zredukowane ilości histonu H3 ze zmetylowaną lizyną 9. oraz obniżone wiązania HP1, co sugeruje istotną rolę H2Av w tworzeniu wyciszonej chromatyny. Wykazano, że w tworzeniu wyciszonej chromatyny u *Drosophila* uczestniczą białka RSF (ang. *Remodeling and Spacing Factor*) oraz ISWI (ang. *Initiation SWItch*) należące do rodziny ATPaz remodelujących chromatynę (por. niżej). Utrata funkcji przez RSF powoduje w chromosomach politenicznych redukcję poziomu H2Av i metylacji lizyny 9. w histonie H3, co powoduje naruszenie transkrypcji w euchromatynowym regionie przylegającym do heterochromatyny centromeru. Omówione badania były przeprowadzone zarówno metodami immunocytochemicznymi, jak i molekularnymi (głównie ChIP) [12]; wyniki te są szczególnie cenne, ponieważ wykazują indukcję w euchromatynie kondensacji chromatyny (a więc jej wyciszenie) przez homolog H2A.Z z udziałem białek remodelujących, czyli mechanizmy powstawania tzw. heterochromatyny fakultatywnej (por. niżej).

H2A.Z może ulegać ubikwitynacji (podobnie jak inne warianty H2A u ssaków, tj. H2A.1, H2A.2 i H2A.X). Monoubikwitynacja H2A.Z następuje w nieaktywnym chromosomie X u samic ssaków. Ta modyfikacja nie występuje w konstytutywnej monochromatynie, w której obok H2A.Z nukleosomy zawierają histon H3, ze zmetylowaną lizyną 4. [33].

Z przytoczonych danych wynika, że wariant H2A.Z bywa sporadycznie obecny w nukleosomach u ssaków. Jego obecność charakteryzuje euchromatynę i powstała z niej tzw. heterochromatyną fakultatywną, zatem nie można przypisać temu wariantowi H2A roli w kondensacji/dekondensacji chromatyny. Uważa się, że brak jest H2A.Z w heterochromatynie konstytutywnej z wyjątkiem heterochromatyny centromerowej i przycentromerowej.

Istnieje pogląd, w myśl którego skupienia kwasowe w histonie H2A uczestniczą w zwijaniu nukleosomów we włókna 30 nm, skutkiem czego następuje represja transkrypcji. Obok reszt kwasowych pochodzących z histonu H2A, na powierzchni oktameru histonowego znajduje się w sumie 7 reszt kwasowych. Zasadowy, N-terminalny ogon histonu H4 (reszty 14.–19.) z jednego nukleosomu wiąże się ze skupieniem kwasowym sąsiedniego nukleosomu, w wyniku czego układy nukleosomowe zwijają się we włókno 30 nm. Reakcja ta nie zachodzi, jeśli ma miejsce acetylacja nawet pojedynczej reszty lizynowej lub jeśli H4 został pozbawiony ogona N-końcowego (ref. [44]). Wariant H2A z rozbudowanym skupieniem kwasowym jest istotny dla podtrzymania integralności np. heterochromatyny przycentromerowej lub podczas kondensacji chromatyny w czasie spermatogenezy (por. wyżej).

Trafność przedstawionej koncepcji została potwierdzona przez wyniki badań *in vitro*, w których zastosowano nie tylko znaleziony u człowieka wariant histonu H2A – H2A.Bbd, ale także trzy mutanty H2A-STT, H2A.Bbd-EE oraz H2A.Bbd-

EE/E. W wariacie H2A.Bbd brak jest skupienia kwasowego typowego dla H2A. Wokół mononukleosomu zawierającego H2A.Bbd nie owija się DNA na odcinku długości ok. 10 pz, zatem taki nukleosom jest zdestabilizowany, zaś jego obecność hamuje działanie międzynukleosomowe [44]. Wskutek obecności w nukleosomach H2A.Z (rozbudowane skupienie kwasowe) lub H2A.Bbd (brak skupienia kwasowego) mogą powstawać struktury chromatynowe z przeciwstawnymi właściwościami: H2A.Z sprzyja tworzeniu włókna 30 nm, zaś H2A.Bbd hamuje jego powstawanie. Zatem H2A.Bbd jest niezbędny dla wysokiego poziomu transkrypcji, która jest wyciszana już w strukturach drugiego rzędu (tj. we włóknach 30 nm). Zgrupowanie kwasowe, przeciwnie, jest niezbędne dla zwinięcia chromatyny i dla skutecznego zahamowania transkrypcji [44].

7. UDZIAŁ NUKLEOSOMÓW W REGULACJI EKSPRESJI GENÓW

Owinięcie DNA wokół rdzenia nukleosomowego odgrywa znaczną rolę w modyfikacji ekspresji genów, głównie przez regulację dostępu czynników warunkujących transkrypcję. W zasadzie nukleosomy działają jako specyficzne represory transkrypcji [8, 12, 20, 29]. Jak już wspomniano wyżej, w regionie promotora brak jest nukleosomów wskutek ich przemieszczania się. Jest to wynik działania kompleksów remodelujących chromatynę zależnych od ATP, takich jak SWI/SNF, MI-2, NURF lub ISWI, które powodują aktywację lub represję genów. Niekiedy ogony histonów rdzeniowych zawierające potranslacyjne modyfikacje uczestniczą w przyłączaniu kompleksów remodelujących do miejsc docelowych i w ten sposób mogą ułatwiać ślizganie się (ang. *sliding*) nukleosomów przez te kompleksy [21], ([ref. 42]).

Opisano dotąd ponad 100 białek remodelujących chromatynę zależnych od ATP i z każdym miesiącem liczba ta się zwiększa. Są to ATPazy. Zaledwie u kilkunastu z nich rozpoznano ich funkcję. Do takich białek należą SWI/SNF (ang. *SWI*/*Sucrose NonFermenting*). Białka te dokonują zmiany pozycji nukleosomów, przy czym mogą one zarówno aktywować, jak i blokować transkrypcję, czyli udostępniać bądź nie miejsca wiązania czynników transkrypcyjnych. Analogiczną rolę przypisuje się innym białkom remodelującym (ref. [37]). Zagadnienie zależnych od ATP białek remodelujących chromatynę jest bardzo rozległe i nie będzie tu rozwijane, ponieważ głównie w odniesieniu do roślin zostało niedawno omówione [14].

N-terminalne ogony odgrywają centralną rolę w epigenetycznej regulacji ekspresji genów, przypuszczalnie z powodu ich bezpośredniej roli w ustalaniu stanu funkcjonalnego chromatyny. Ogony te są istotne dla zwijania nukleosomów w skondensowane drugo- i trzeciorzędowe struktury chromatyny (por. niżej, 8). Przeprowadzono doświadczenie polegające na usunięciu ogona histonów rdzeniowych i zbadaniu efektu braku ogona na pozycję translacyjną nukleosomów. Użyto w tym celu systemu nukleosomów odtwarzanych *in vitro* ze specyficznymi sekwencjami DNA. Okazało się, że domeny ogona rzeczywiście uczestniczą w umiejscowieniu translacyjnym kierowanym przez sekwencję, ponieważ usunięcie domeny ogona z

istniejących nukleosomów może prowadzić do zmiany rozmieszczenia pozycji translacyjnych wzdłuż fragmentów DNA [42].

Posługując się genem indukowanym *PHO5* u drożdży, przeprowadzono szczegółowe badania dotyczące mechanizmów towarzyszących indukcji tego genu. Model ten był wielokrotnie badany od kilkunastu lat, a wnioski wyprowadzane z wyników bywały sprzeczne, m.in. uznano, że aktywacja następuje w wyniku demontażu nukleosomów (ref. [4]). Ostatnio, w rezultacie badań, w których promotor genu *PHO5* posłużył jako model wykazano, że histony rdzeniowe nie są ani całkowicie demontowane, ani usuwane z aktywnego promotora. Promotor *PHO5* w stanie represji zawiera nukleosomy w określonej pozycji, z której zostają całkowicie bądź częściowo usunięte. Przemieszczenie ich odbywa się z udziałem kompleksu remodelującego RSC, który powoduje przesunięcie nukleosomów bez potrzeby kontaktu z łącznikowym DNA w przedniej części nukleosomów. Zdaniem autorów, wszystkie nukleosomy promotora zdolne do demontażu mogą być usunięte, z wyjątkiem jednego, związanego z kompleksem remodelującym [4].

Obecnie można uzyskać wysokorozdzielcze mapy dla niektórych modyfikacji chromatyny (np. u *Arabidopsis*, ale także u drożdży i zwierząt) (ref. [31]). Tak dokładne mapy uzyskuje się dzięki zastosowaniu metody nazywanej po polsku mikromacierze dachówkowate (ang. *tiling microarrays*) [45]. Dzięki tej metodzie można wykryć i zlokalizować w konkretnych tkankach oraz podczas rozwoju organizmu, np. zmiany epigenetyczne zachodzące w histonach rdzeniowych. Zmian takich, dotyczących aminokwasów w ogonach, opisano dotąd ok. 60 (ref. [24, 31]).

8. KONDENSACJA CHROMATYNY

Przypomnijmy, że podstawowe włókno o średnicy 30 nm może stanowić tylko część chromatyny, w której dominują formy o większym stopniu kondensacji. Udział ogonów H3 i H4 w kondensacji chromatyny został omówiony w części 5. Najwyższy stopień kondensacji jest osiągany w heterochromatynie (por. niżej). W każdym typie kondensacji chromatyny biorą udział białka remodelujące, przy czym włókno podstawowe może związać się na różne sposoby tworząc układy, z bądź regularnie, bądź z nieregularnie rozmieszczonymi nukleosomami. W regulowaniu odległości między nukleosomami biorą udział, jak wspomniano wyżej, białka remodelujące chromatynę. Remodeling na ogół dotyczy tylko 1–2 nukleosomów w proksymalnych regionach promotorów (por. wyżej). Obejmuje zmiany w usytuowaniu nukleosomów, współdziałaniu histon-DNA oraz składu i budowy histonu w oktamerach (ref. [20]).

Biorąc pod uwagę zależność między strukturą chromatyny a jej aktywnością transkrypcyjną oraz zależność tej struktury od układu nukleosomów można by przyjąć, że w umiejscowieniu nukleosomów w jądrze mógłby odgrywać rolę kod remodelujący chromatynę (ang. *chromatin-remodeling code*). Cechy kodowane przez sekwencje DNA byłyby rozpoznawane przez kompleksy remodelujące chromatynę, aby powstał specyficzny wzór rozmieszczenia nukleosomów, który determinuje

dostępność DNA i w zależności od stanu włączenia lub wyłączenia systemu reguluje procesy zależne od DNA. Pogląd ten powstał na podstawie wyników badań, które wskazały, że czynniki remodelujące chromatynę mogą powodować powstanie lokalnej jej struktury, co pozwala na wybiórcze udostępnienie DNA do transkrypcji [29]. Należy zaznaczyć, że coraz większa liczba badań wykazuje takie docelowe kierowanie czynników remodelujących chromatynę do specyficznych loci w genomie, tj. takich, które charakteryzują się odpowiednim wzorem wyznaczników epigenetycznych w DNA i w histonach rdzenia nukleosomu (ref. [29]).

Kondensacja chromatyny wyższego rzędu z reguły powoduje wyciszenie aktywności transkrypcyjnej i odbywa się z udziałem różnych rodzin ATPaz, stanowiących białka remodelujące chromatynę. Utrata jednego z nich, ISWI (*Initiation SWItch*) prowadzi u *Drosophila* do rozległych zmian w strukturze chromosomów politenicznych, derepresji licznych genów, ubytku histonu H1, co zostało udokumentowane również wynikami badań *in situ* [6].

Stan dekondukcji chromatyny (na przykładzie tzw. jasnych prążków w chromosomach politenicznych u *Drosophila*) nie oznacza, że aktualnie odbywa się na jej terenie transkrypcja [3]. Stan taki umożliwia dostęp do specyficznych miejsc wiązania białek z DNA, również z tym na powierzchni nukleosomów, zarówno umożliwiających transkrypcję (ref. [5]), jak i powodujących ich wyciszenie (np. niektóre białka systemu Polycomb – ref. [19, 26]).

Heterochromatyny, jak wspomniano wyżej charakteryzują się najwyższym stopniem kondensacji. Heterochromatyna zwana konstytutywną zawiera specyficzne, powtarzalne (satelitarne) sekwencje DNA. W jej nukleosomach histony rdzeniowe podlegają modyfikacjom charakterystycznym dla wyciszonej chromatyny (ref. [9, 24]) i są ułożone znacznie gęściej wzdłuż nici łącznikowej DNA niż w euchromatynie (por. wyżej). Te właściwości heterochromatyny konstytutywnej sprawiają, że jest ona nieaktywna transkrypcyjnie, chociaż opisano szereg przypadków istnienia w heterochromatynie regionów kodujących, wykrywanych w wyniku sekwencjonowania jej DNA (ref. [24, 25, 43]).

W literaturze istnieje wciąż pojęcie heterochromatyny fakultatywnej, która jest skondensowaną euchromatyną, ale wszelkie cechy chemiczne, strukturalne i funkcjonalne są takie, jak w heterochromatynie konstytutywnej (ref. [24]). Jest oczywiste, że heterochromatyna fakultatywna zawiera liczne geny, co jest cechą właściwą dla euchromatyny (ref. [24, 28]).

W remodelingu prowadzącym do powstania stanu skupienia chromatyny charakterystycznego dla heterochromatyny biorą udział białka MeCP2 równolegle ze zmetylowanym DNA. Ludzkie białko ATRX jest związane przez bezpośrednie współdziałanie i taką samą lokalizację z białkiem HP1 (charakterystycznym dla chromatyny skondensowanej, [24, 26]). Homolog ATRX *Cenorhabditis elegans* także wykazuje współdziałanie z homologiem HP1, podobnie jak inne białka zaliczane do remodelingujących, a mianowicie ludzkie Mi-2, ACF (*ATP-utilizing Chromatin Assembly and Remodeling FACTOR*), czynnik CRF [2]. ATRX istnieje w dwóch izoformach. Długa izoforma tego białka lokalizuje się w heterochromatynie chromo-

centrum, a więc w chromatynie konstytutywnej, politenicznych chromosomów gruczołów ślinowych *Drosophila*, podczas gdy krótka izoforma wiąże się do wielu miejsc wzdłuż ramion chromosomowych (potencjalna heterochromatyna fakultatywna). Sugeruje się, że regularna organizacja nukleosomów może być podobna dla heterochromatyny konstytutywnej i transkrypcyjnie wyciszonej chromatyny oraz że dzięki temu może nastąpić działanie czynników remodelujących zależnych od ATP.

9. PODSUMOWANIE

Mechanizmy regulujące strukturę i funkcje nukleosomów, a właściwie chromatому, tj. właściwego nukleosomu wraz z łącznikowym DNA i łącznikowymi histonami, są ściśle ze sobą skoordynowane. Stąd w osobnych omówieniach modyfikacji biochemicznych histonów rdzeniowych (część 5.), udziału nukleosomu w regulacji ekspresji genów (część 7.), a także kondensacji chromatyny (część 8.), niezbędnych ze względów redakcyjnych znajdują się pewne powtórzenia. Nukleosomy stanowią klasyczny przykład więzi między strukturą a funkcją.

Podstawową funkcją nukleosomów, jak wynika z przedstawionych wyżej danych, jest ich udział w regulacji ekspresji genów. Jest ona regulowana przez przemiany biochemiczne i strukturalne w obrębie DNA i towarzyszących mu białek. Należy przypomnieć, że w świetle wyników uzyskanych w ciągu minionych kilkunastu lat, znaczną rolę w regulacji biosyntezy białka na etapie transkrypcji i translacji przypisuje się kwasom rybonukleinowym, a przede wszystkim małym RNA. Zagadnienia te były ostatnio tematem artykułów przeglądowych, do których lektury zachęcam zainteresowanych czytelników [22, 36, 38].

LITERATURA

- [1] BASSETT A, COOPER S, WU C, TRAVERS A. The folding and unfolding of eukaryotic chromatin. *Curr Opin Genet Develop* 2009; **19**: 159–165.
- [2] BASSETT AR, COOPER SE, RAGAB A, TRAVERS AA. The chromatin remodeling factor dATRX is involved in heterochromatin formation. *PLoS ONE* 2008; **3**: e2099.
- [3] BERKAEVA M, DEMA KOV S, SCHWARTZ YB, ZHIMULEV I. Functional analysis of *Drosophila* polytene chromosomes decompacted unit: the interband. *Chrom Res* 2009; **17**: 745–754.
- [4] BOEGER H, GRIESENBECK J, KORNBERG RD. Nucleosome retention and the stochastic nature of promoter chromatin remodeling for transcription. *Cell* 2008; **133**: 716–726.
- [5] BROWN TA. Genomy. Wyd. Naukowe PWN, Warszawa 2009.
- [6] CORONADVE, SIRIACO G, ARMSTRONG JA, SNARSKAYAN, McCLYMONT SA, SCOTT M, TAMKUN JW. ISWI regulates higher-order chromatin structure and histone assembly *in vivo*. *PLoS Biol* 2007; **5**: 2011–2021.
- [7] FIELD Y, KAPLAN N, FONDUFE-MITTEDORF Y, MOORE IK, SHARON E, LUBLING Y, WIDOM J, SEGAL E. Distinct modes of regulation by chromatin uncoded through nucleosome positioning signals. *PLoS Comput Biol* 2008; **4**: e1000216.
- [8] FYDOROV DV, BLOWER MD, KARPEN GH et al. Acf1 confers unique activities to ACF/CHRAC and promotes the formation rather than disruption of chromatin *in vivo*. *Gene Develop* 2004; **18**: 170–183.
- [9] GARTENBERG M. Heterochromatin and the cohesion of sister chromatids. *Chrom Res* 2009; **17**: 229–238.

- [10] GREAVES IK, RANGASAMY D, DEVOY M, MARSHALL GRAVES JA, TREMENTHIC DJ. The X and Y chromosomes assemble into H2A.Z, containing facultative heterochromatin following meiosis. *Mol Cell Biol* 2006; **26**: 5394–5405.
- [11] GREAVES IK, RANGASAMY D, RIDGWAY P, TREMENTHIC DJ. H2A.Z contributes to the unique 3D structure of the centromere. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; **104**: 525–530.
- [12] HANAI K, FURUHASHI H, YAMAMOTO T, AKASAKA K, HIPOSE S. RSF governs silent chromatin formation via histone H2A.v replacement. *PLoS Genet* 2008; **4**: e1000011.
- [13] HARTLEY PD, MADHAN HD. Mechanisms that specify promoter nucleosome location and identity. *Cell* 2009; **137**: 445–448.
- [14] JERZMANOWSKI A. Chromatin remodeling in control of plant development. *Acta Biol Polon* 2009; **56**, supl. 2.
- [15] JERZMANOWSKI A. Histony typu H1 u roślin – nieoczekiwane funkcje uniwersalnych elementów systemu epigenetycznego. *Post Biol Kom* 2009; **36**, supl. 25: 33–41.
- [16] IOSHIKHES IP, ALBERT I, ZANTON SI, PUGH BF. Nucleosome positions predicted through comparative genomics. *Nature Struct* 2006; **38**: 1210–1215.
- [17] KAN P-Y, CATERINO TL, HAYES JJ. The H4 tail domain participates in intra- and internucleosome interactions with protein and DNA during folding and oligomerisation of nucleosome arrays. *Mol Cell Biol* 2009; **29**: 538–546.
- [18] KAPLAN M, MOORE JK, VONDULE-MITTENDORF Y, GOSSET AJ, TILLOD D, FIELD Y, LEPROUST EM, HUGHES TR, LIEB JD, WIDOM J, SEGAL E. The DNA-uncoded nucleosome organization of a eukaryotic genome. *Nature* 2009; **458**: 362–366.
- [19] KEPPOLA TK. Polycomb group complexes – many combinations, many functions. *Trends Cell Biol* 2009; **19**: 692–703.
- [20] KWON CS, WAGNER D. Unwinding chromatin for development and growth: a few genes at a time. *Trends Genet* 2007; **23**: 403–412.
- [21] MAIER VK, CHINODA M, RHOADES D, BECKER PB. ACF catalyses chromatosome movements in chromatin fibers. *EMBO J* 2008; **27**: 817–826.
- [22] MATZKE M, KANNOT T, DAXINGER L, HUETTEL B, MATZKE AJH. RNA mediated chromatin-based silencing in plants. *Curr Opin Plant Biol* 2009; **21**: 367–376.
- [23] OLSZEWSKA MJ. Struktura i funkcja kompleksu centromer/kinetochor. *Post Biol Kom* 2004; **31**, supl. 22: 5–19.
- [24] OLSZEWSKA MJ. Heterochromatyna i „heterochromatynizacja”. *Post Biol Kom* 2007; **34**: 391–407.
- [25] OLSZEWSKA MJ. Neocentromery. II. Molekularne czynniki niezbędne dla powstania centromeru i neocentromeru. *Post Biol Kom* 2008; **35**: 273–285.
- [26] OLSZEWSKA MJ. Epigenetyczne kontrola rozwoju roślin przez białka grupy Polycomb i Tritorax. *Post Biol Kom* 2009; **36**: 517–537.
- [27] PECKHAM HE, THURMAN RE, FU Y, STAMATOYANNOPOULOS JA, NOBLE WS, STRUHL K, WENG Z. Nucleosome positioning signals in genomic DNA. *Genome Res* 2007; **17**: 1170–1177.
- [28] PENG JC, KARPEN GH. Epigenetic regulation of heterochromatic stability. *Curr Opin Genet Develop* 2008; **18**: 204–211.
- [29] RIPPE K, SCHRADER A, RIEDE P, STROHNER R, LEHMANN E, LANGST G. DANN sequence- and conformation-directed positioning of nucleosomes by chromatin-remodeling complexes. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; **104**: 15635–15640.
- [30] ROBINSON PJJ, AN W, ROUTH A, MARTINO F, CHAPMAN L, ROEDER RG, RHOADES D. 30 nm chromatin decomposition requires both H4-K16 acetylation and linker histone eviction. *J Mol Biol* 2008; **381**: 816–825.
- [31] ROUDIER F, TEIXEIRA FK, COLOT V. Chromatin indexing in *Arabidopsis*: an epigenomic tale of tails and more. *Trend Genet* 2009; **25**: 511–517.
- [32] ROUTH A, SANDIN S, RHODES D. Nucleosome repeat length and linker histone stoichiometry determine chromatin fiber structure. *Proc Natl Acad Sci USA* 2008; **105**: 8872–8877.
- [33] SARCINELLA A, ZUARTE PC, LAU PNI, DRAKER R, CHEUNG P. Monoubiquitination of H2A.Z distinguishes its association with euchromatin of facultative heterochromatin. *Mol Cell Biol* 2007; **27**: 6457–6468.
- [34] SEGAL E, WIDOM J. What controls nucleosome positions? *Trends Genet* 2009; **25**: 235–343.
- [35] SEGAL E, WIDOM J. Poly(dA:dT) tracts: major determinants of nucleosome organization. *Curr Opin Struct Biol* 2009; **19**: 65–71.

- [36] SZWEYKOWSKA-KULIŃSKA Z. Ekspresja genów. W: Wojtaszek P, Woźny A, Ratajczak L [red.] *Biologia komórki roślinnej t.2. Funckja*. Warszawa, wyd. naukowe PWN 2007: 73–128.
- [37] SZWEYKOWSKA-KULIŃSKA Z, SZARZYŃSKA B, SOBKOWIAK Ł, JARMOŁOWSKI A. Struktura roślinnych genów mikro RNA oraz potencjalne możliwości regulacji ich ekspresji. *Post Biol Kom* 2009; **36**, supl. 25: 43–58.
- [38] TYCZEWSKA A, FIGLEROWICZ M. Nowe oblicze „świata i RNA”. *Nauka* 2009, 2: 93–109.
- [39] VOLUEV D, ICHIKOVA J, TONTHAT T, STUART J, RANADE S, PECKHAM H, ZENG K, MALEK JA, COSTA G, McKERNAN K, SIDOW A, FIRE A, JOHNSON SM. A high resolution, nucleosome position map of *C. elegans* reveals a lack of universal sequence-dictated positioning. *Genome Res* 2008; **18**: 1051–1063.
- [40] WANG X, HAYES JJ. Acetylation mimics within individual core histone tail domains indicate distinct roles in regulating the stability of higher-order chromatin structure. *Mol Cell Biol* 2008; **28**: 227–236.
- [41] Wu C, BASSETT A, TRAVERS A. A variable topology for the 30-nm chromatin fiber. *EMBO Rep* 2007; **8**: 1129–1134.
- [42] YANG Z, ZHENG C, HAYES JJ. The core histone tile domain contribute to sequence-dependent nucleosome positioning. *J Biol Chem* 2007; **282**: 7930–7938.
- [43] YASUMARA JC, WAKIMOTO BT. Oxymoron no more: the expanding world of heterochromatic genes. *Trens Genet* 2006; **22**: 230–238.
- [44] ZHOU J, FAN JY, RANGASAMY D, TREMETHICK DJ. The nucleosome surface regulates chromatin compaction and couples it with the transcriptional repression. *Nature Struct Mol Biol* 2007; **14**: 1070–1076.
- [45] ZMIENKO A, GUZOWSKA-NOWOWIEJSKA M, PŁADER W, FIGLEROWICZ M. Analiza aktywności transkrypcyjnej przy zastosowaniu mikromacierzy dachówkowych. *Biotechnologia* 2008; **4**: 101–114.

Redaktor prowadzący – Jerzy Kawiak

Otrzymano: 11.05. 2010 r.

Przyjęto: 09.06. 2010 r.

Prof. dr hab. Maria Joanna Olszewska

*Katedra Genetyki Ogólnej, Biologii Molekularnej i Biotechnologii Roślin,
Uniwersytet Łódzki,*

ul. Banacha 12/16, 90-237 Łódź

e-mail: olszewsk@biol.uni.lodz.pl