



表观遗传学

第四章 染色质重塑

基因表达



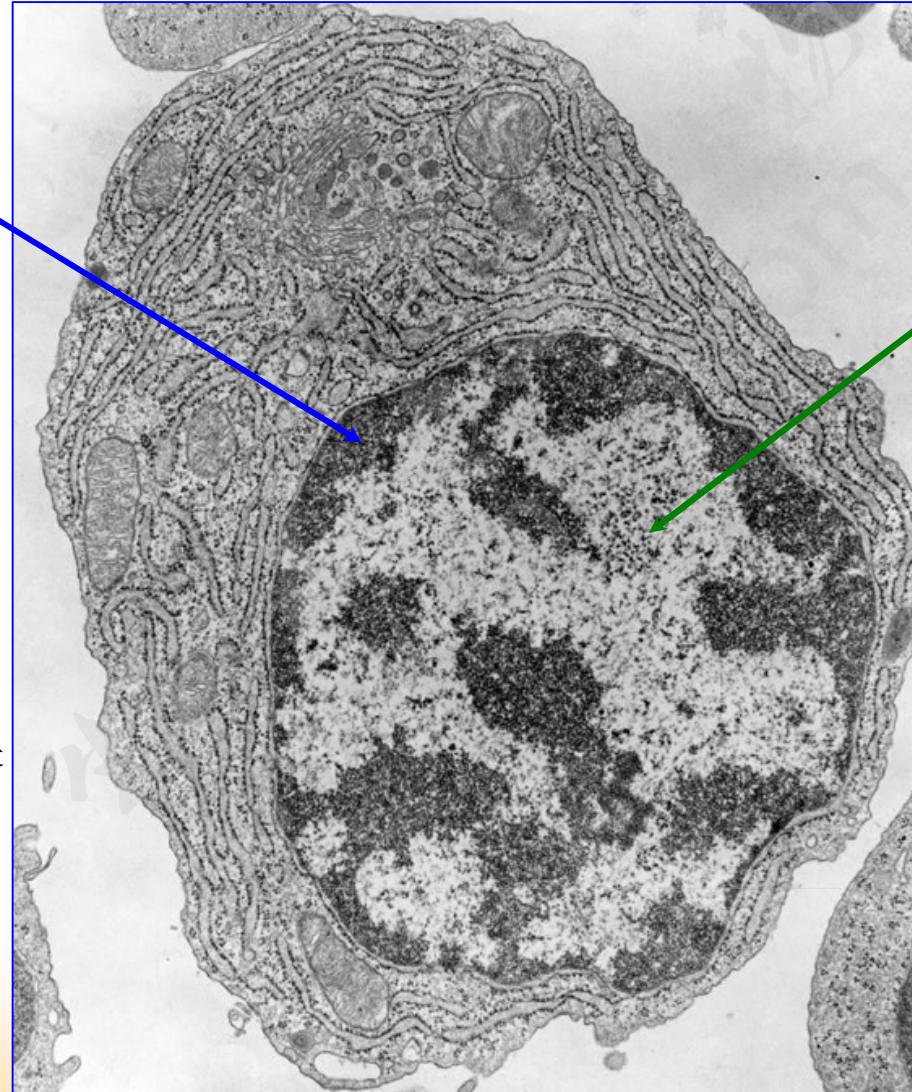
- 1. 病毒：时间依赖性调节和利用宿主细胞的机制；
- 2. 细菌：组成性表达+负反馈调控；
- 3. 真核生物：以核小体为基本单位的染色质，以激活和沉默为基本方式调控基因的表达。
- 4. 染色质重塑：基因表达的复制和重组等过程中，染色质的包装状态，核小体中的组蛋白以及对应的DNA分子会发生改变的分子机理。

染色质: 阴阳理论



异染色质

- 高度致密
- 基因密度低
- 基因沉默
- 在S后期复制
- DNA过甲基化
- 组蛋白H1密集
- 组蛋白具有抑制性的修饰



常染色质

- 较为疏松
- 基因密度高
- 基因活化
- 在S早期复制
- DNA缺甲基化
- 组蛋白H1缺乏
- 组蛋白具有活化性质的修饰

异染色质与常染色质

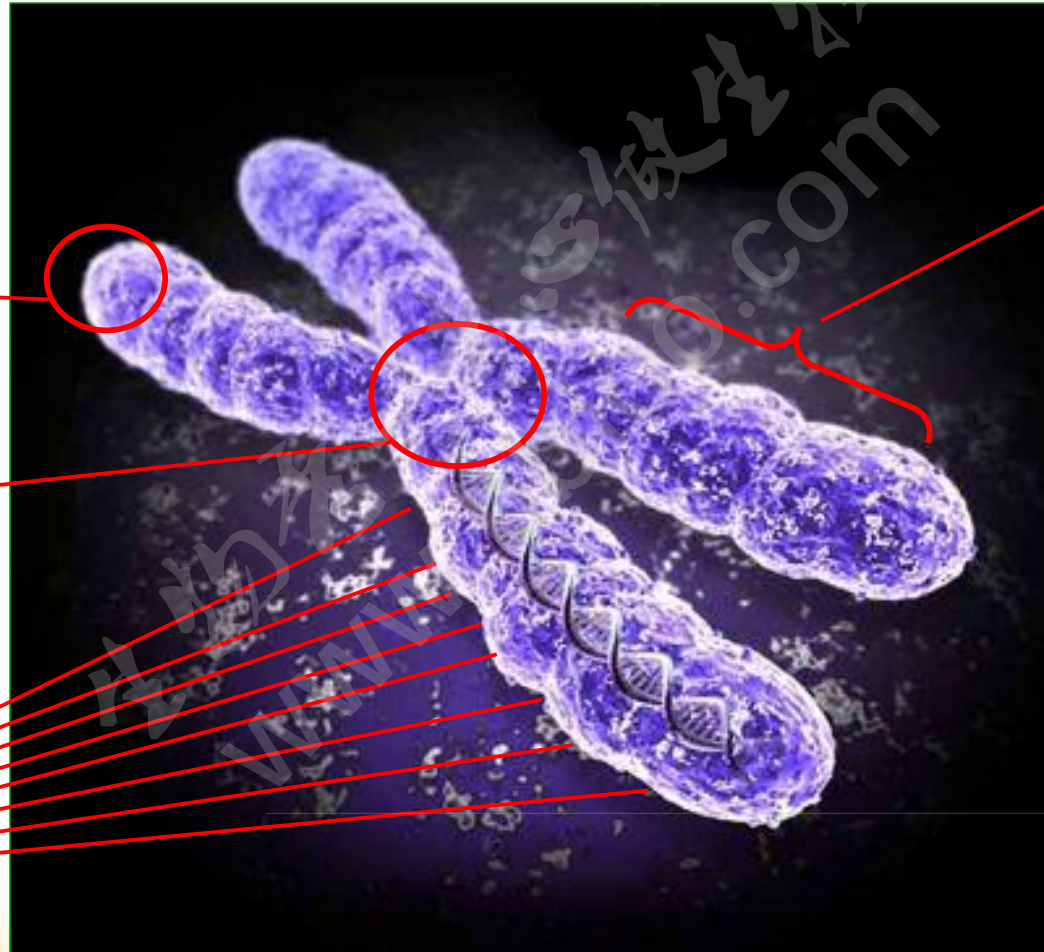


组成型的异染色质

端粒

动粒

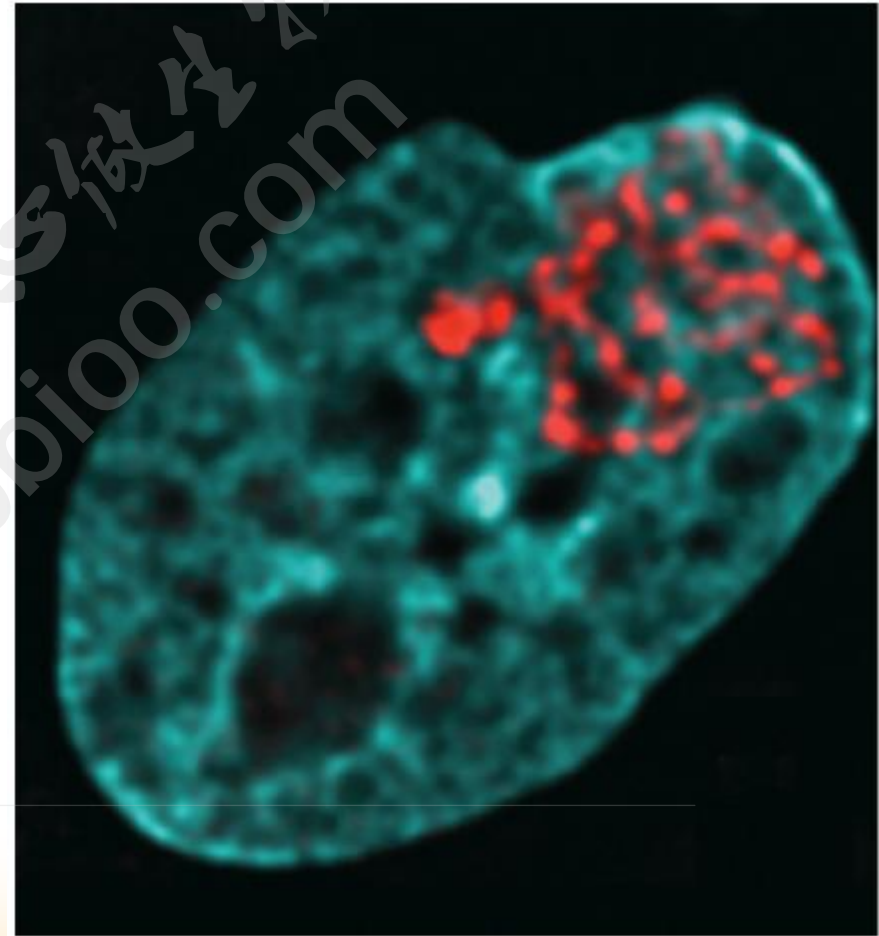
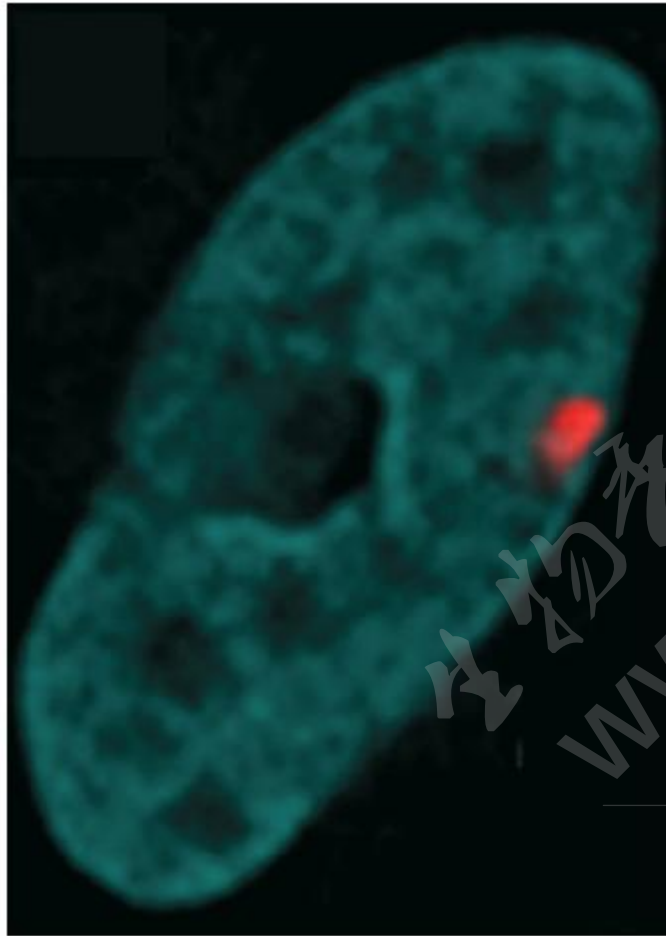
染色体上基因
沉默的区域



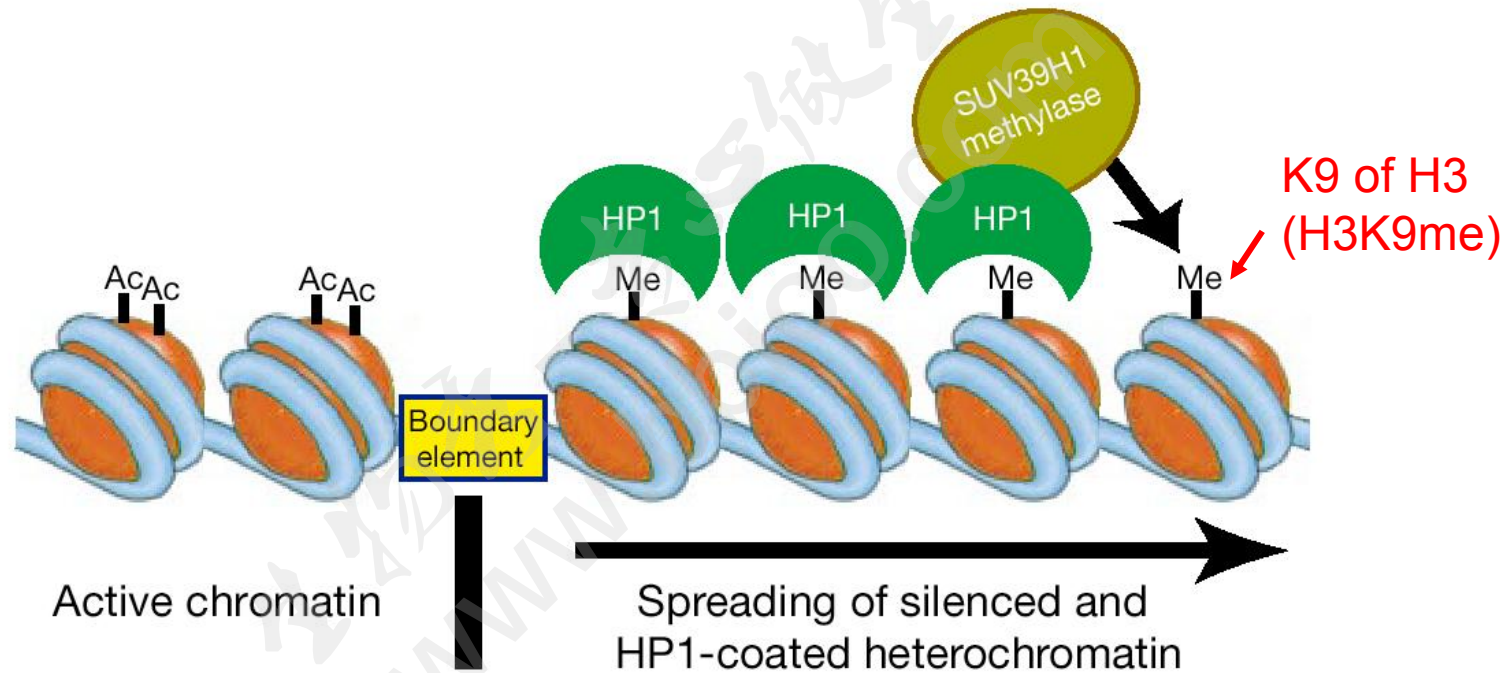
常染色质

染色体上基因
活化的区域

异染色质与常染色质: 100Mb



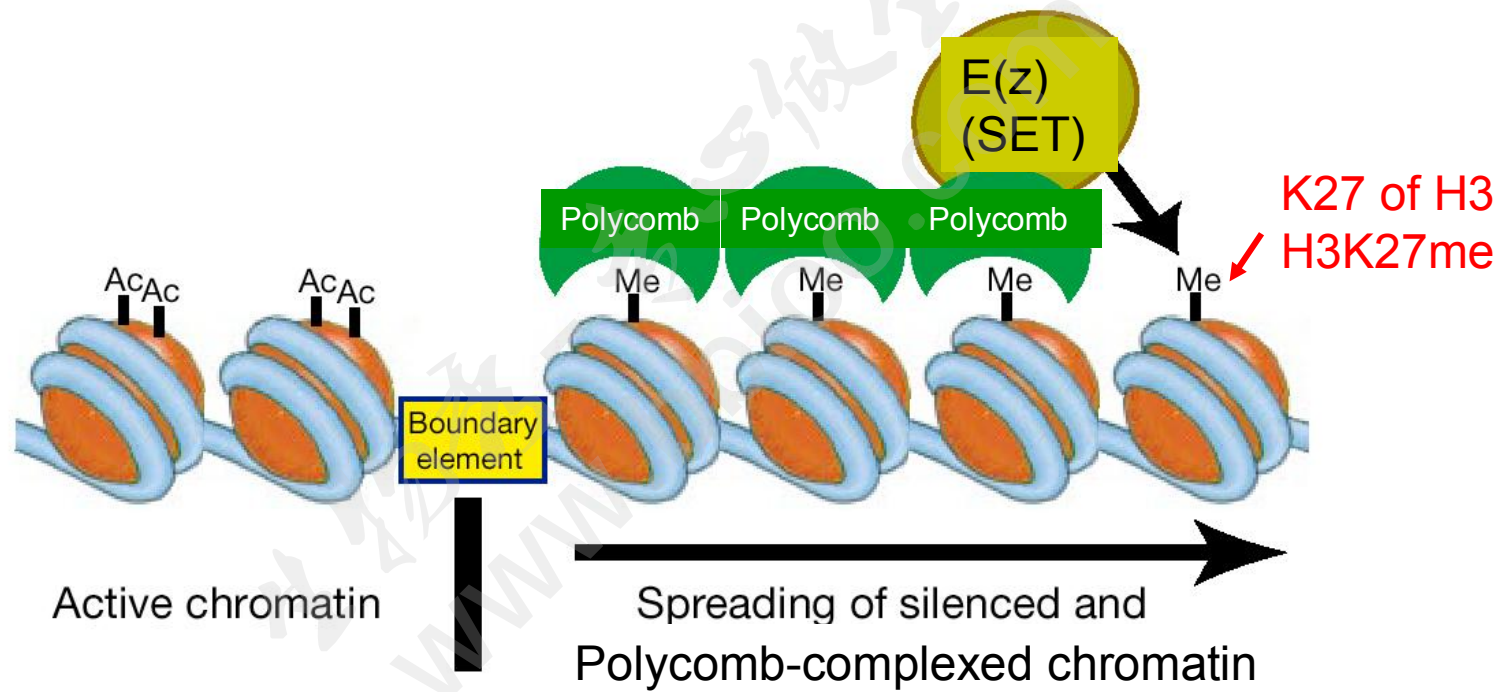
异染色质在果蝇和人中的散布



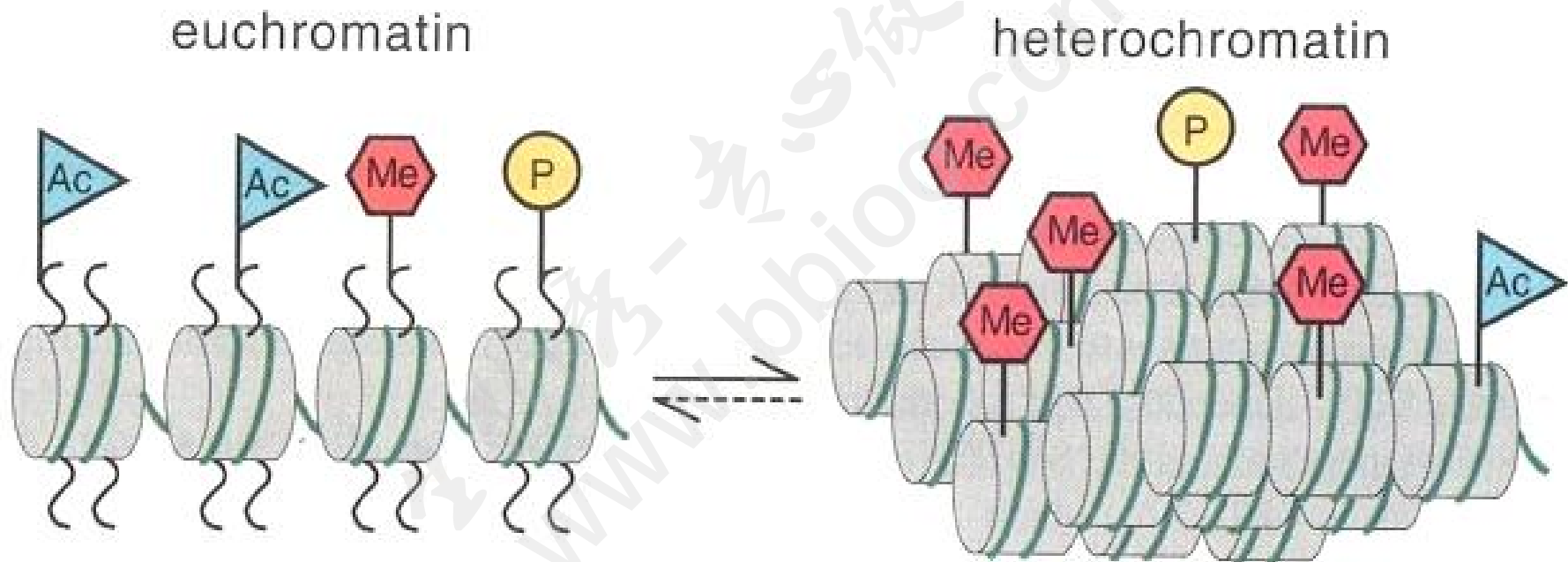
表达沉默的染色体上的同源异型基因



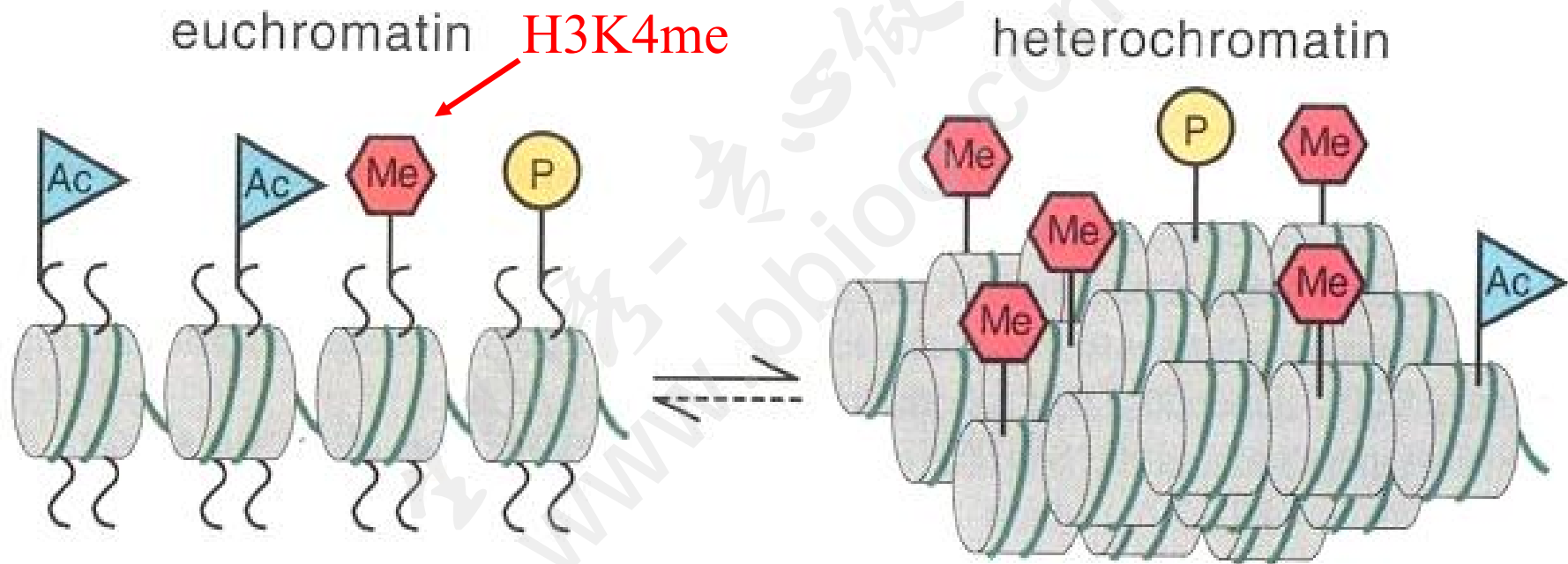
homeotic gene



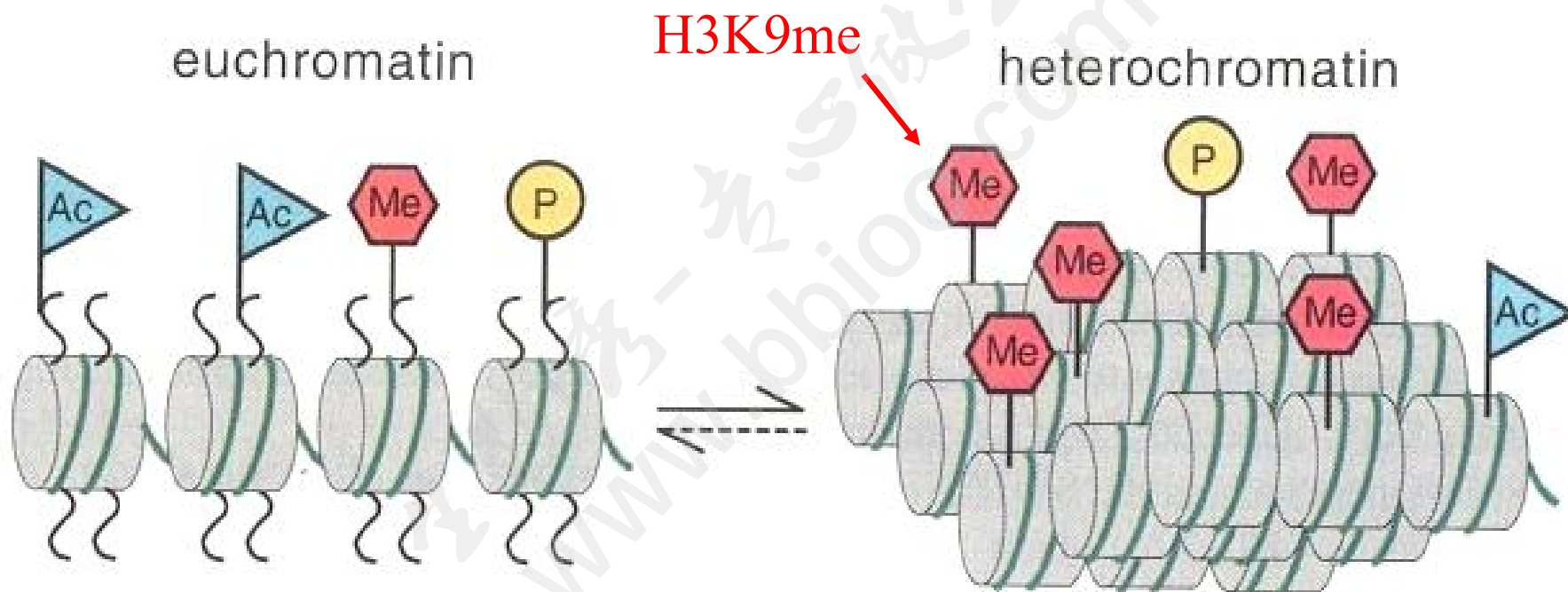
常染色质 vs. 异染色质



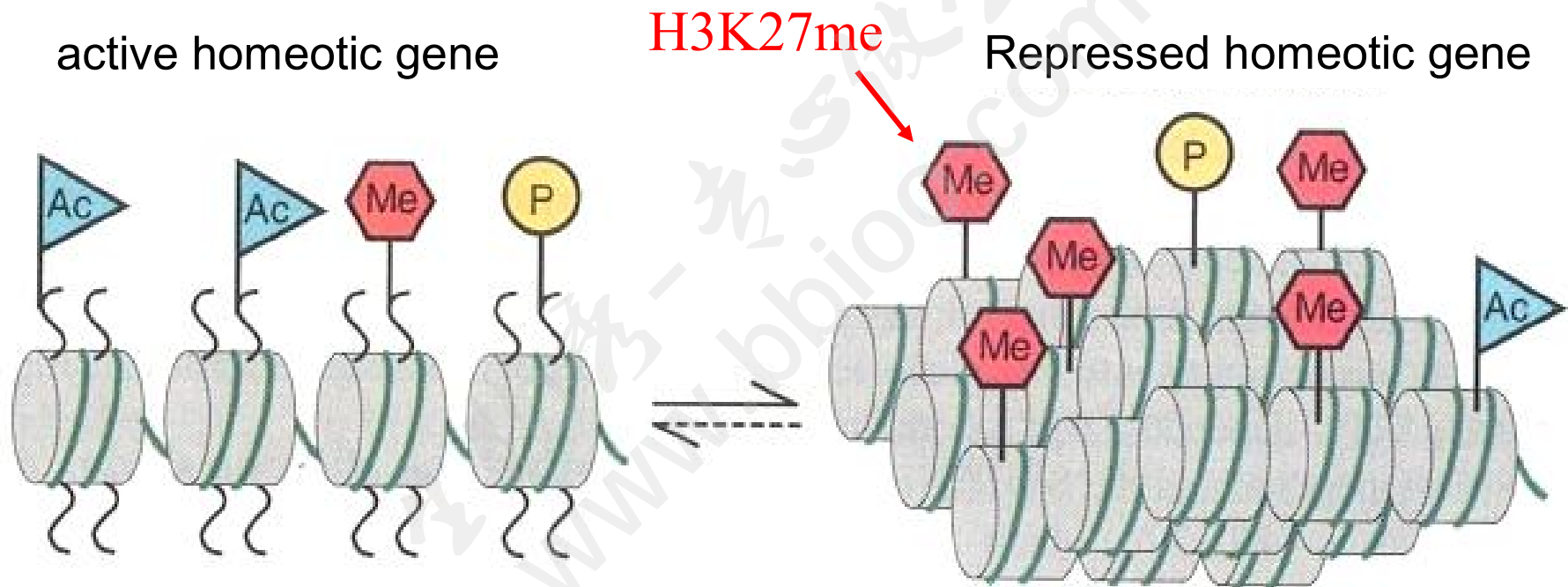
常染色质 vs. 异染色质



常染色质 vs. 异染色质



同源异型基因的调控





内容纲要

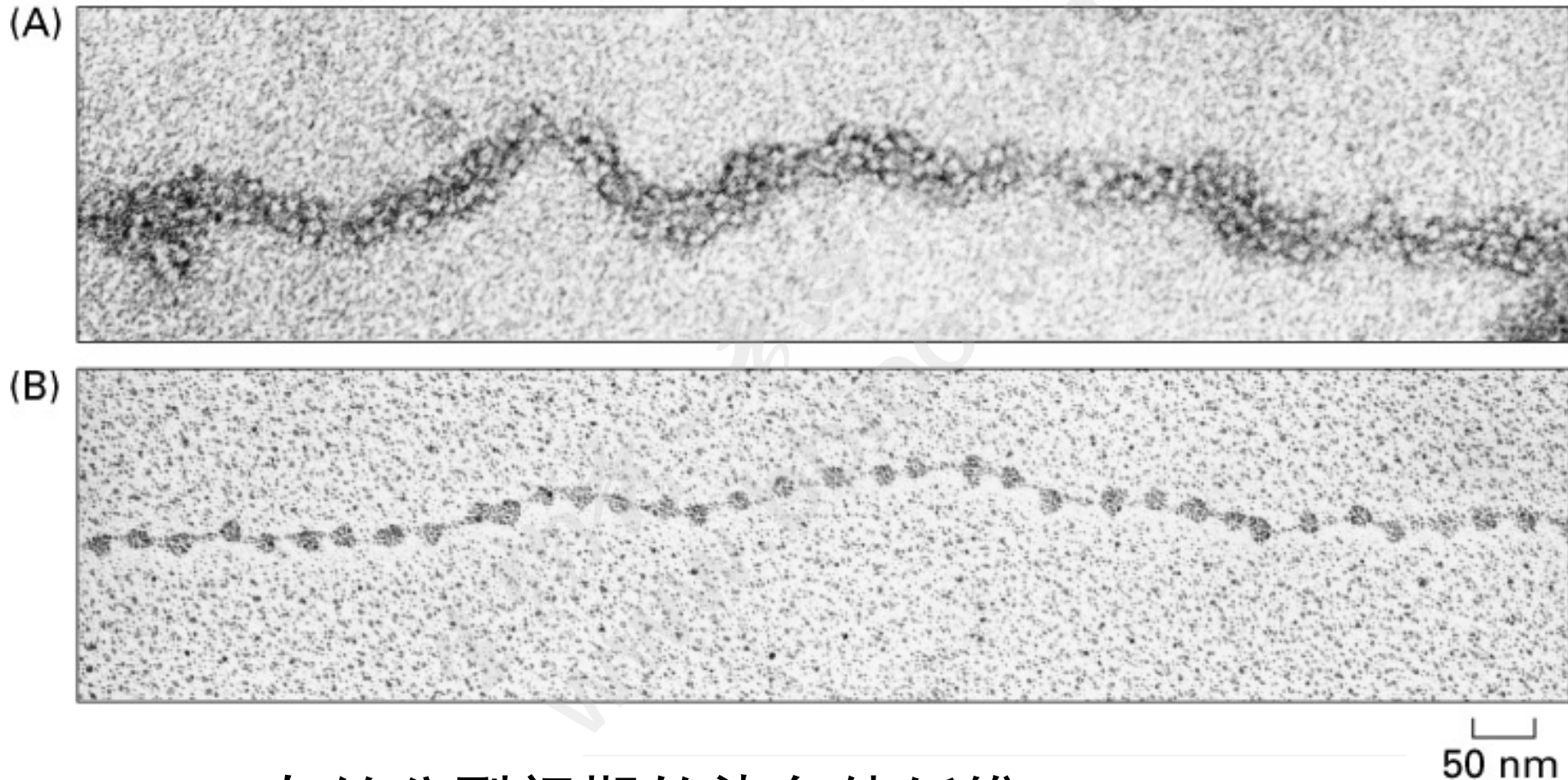
- 一、核小体的定位
- 二、染色质重塑的假设步骤
- 三、染色质重塑复合物的种类与功能
- 四、染色质重塑的几种模式
- 五、细胞周期中的染色质重塑



一、核小体的定位

- 1. 由核心组蛋白和146bp的核心DNA组成；
- 2. 由8-114bp的连接DNA以及H1组成连接结构；
- 3. 核小体的定位影响染色质的功能

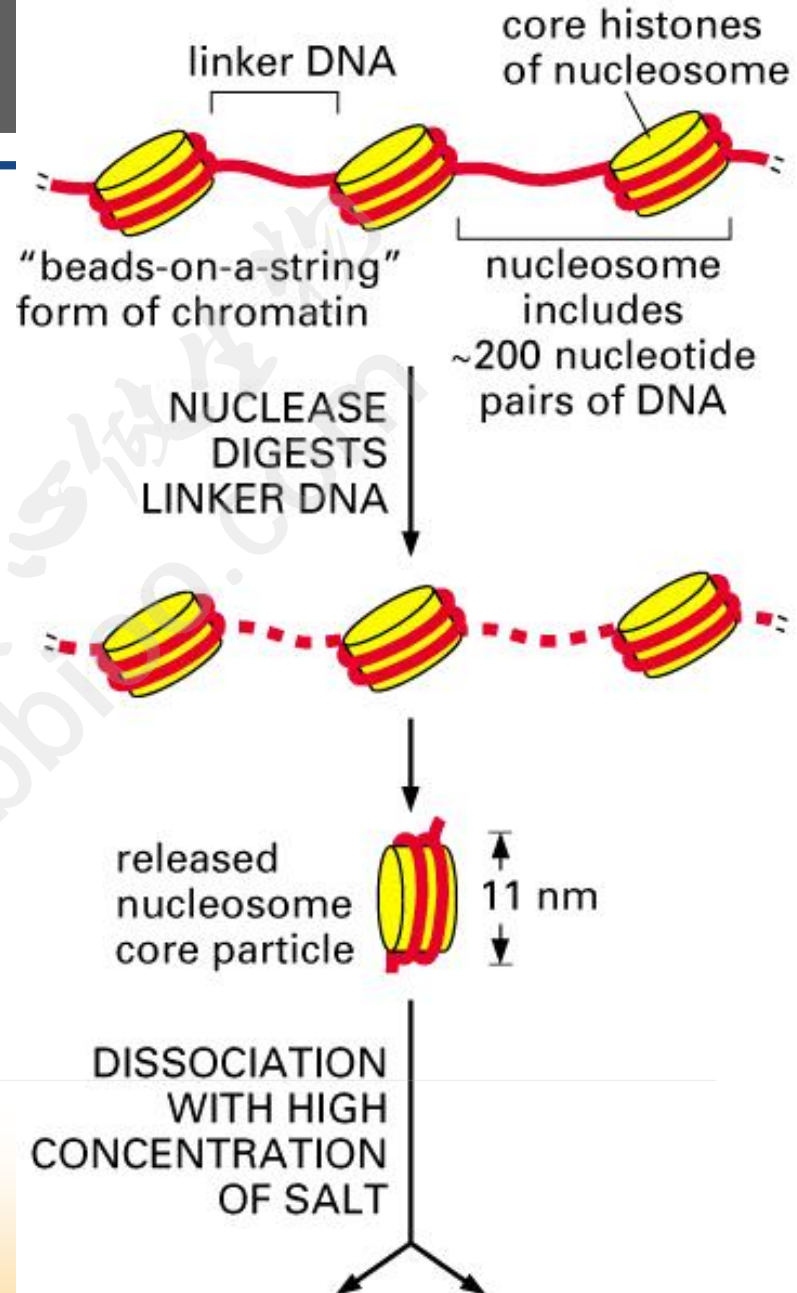
核小体的分布



- ❑ A: 有丝分裂间期的染色体纤维: 30nm
- ❑ B: DNA链拉伸后核小体的分布

核小体

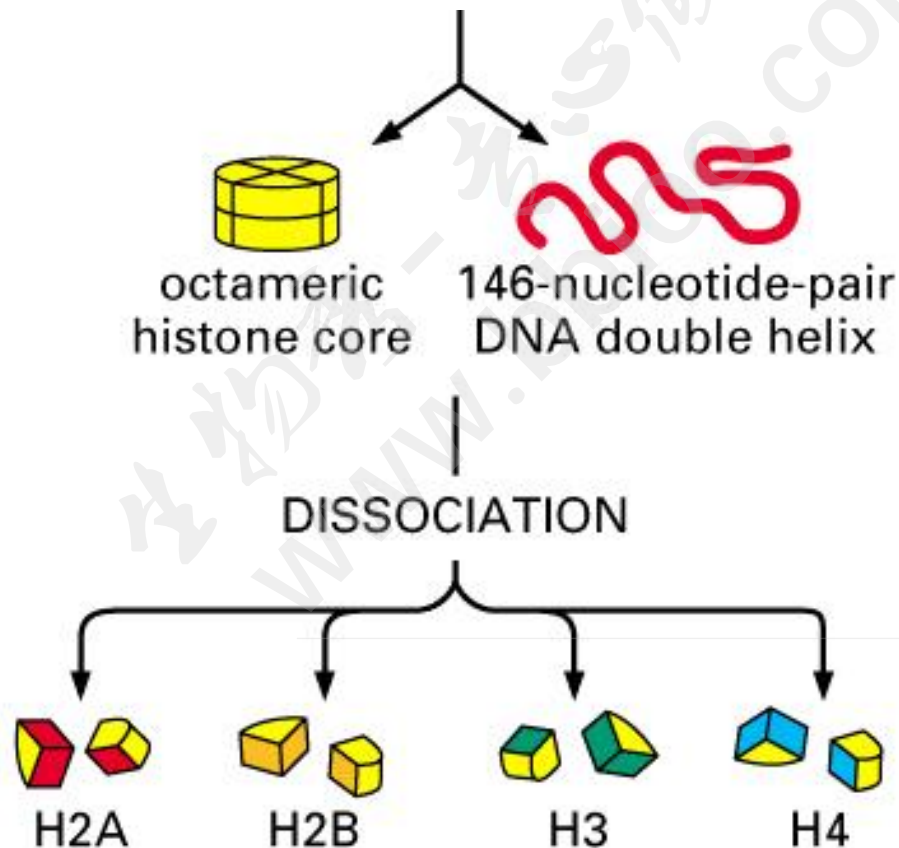
- 1. 链上的珠子+连接DNA:
~200bp
- 2. 核心组蛋白;
- 3. 通过核酶切割DNA: 直径11nm的核小体



核小体 (2)



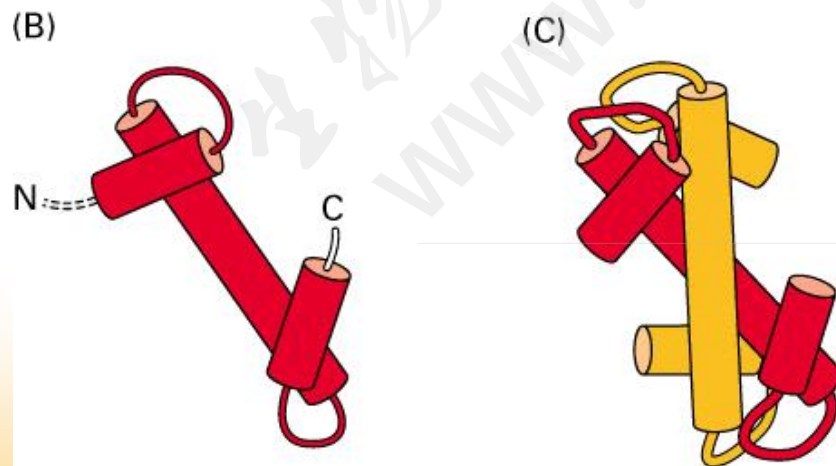
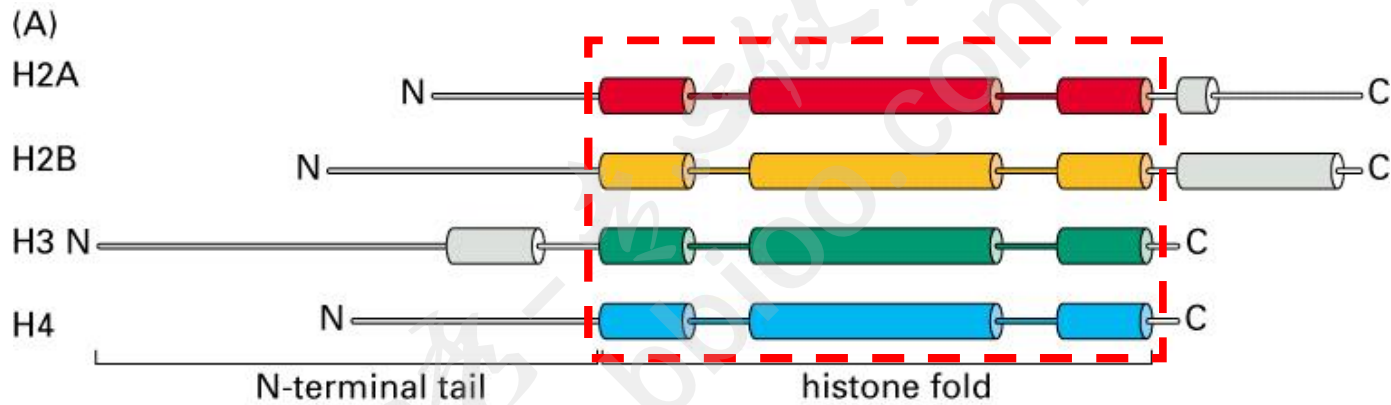
- ❑ 1. 核心组蛋白：8个组蛋白的复合物；
- ❑ 2. 146bp的核心DNA；
- ❑ 3. 平均缠绕1.65圈。



核心组蛋白



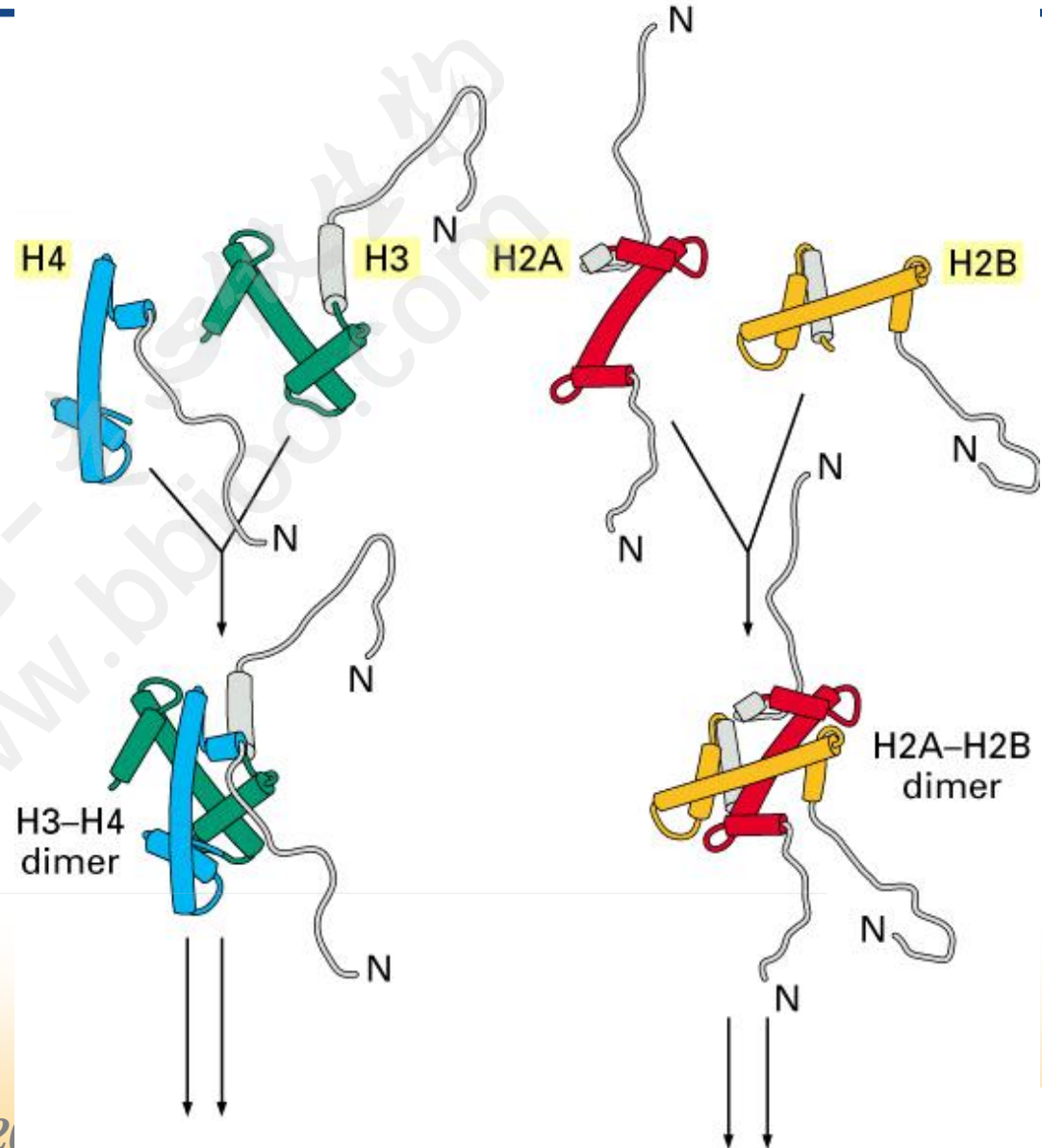
- A. 核心组蛋白：H2A, H2B, H3 & H4
- B. 组蛋白的结构； C. 组蛋白二聚体的结构



核心组蛋白 (2)



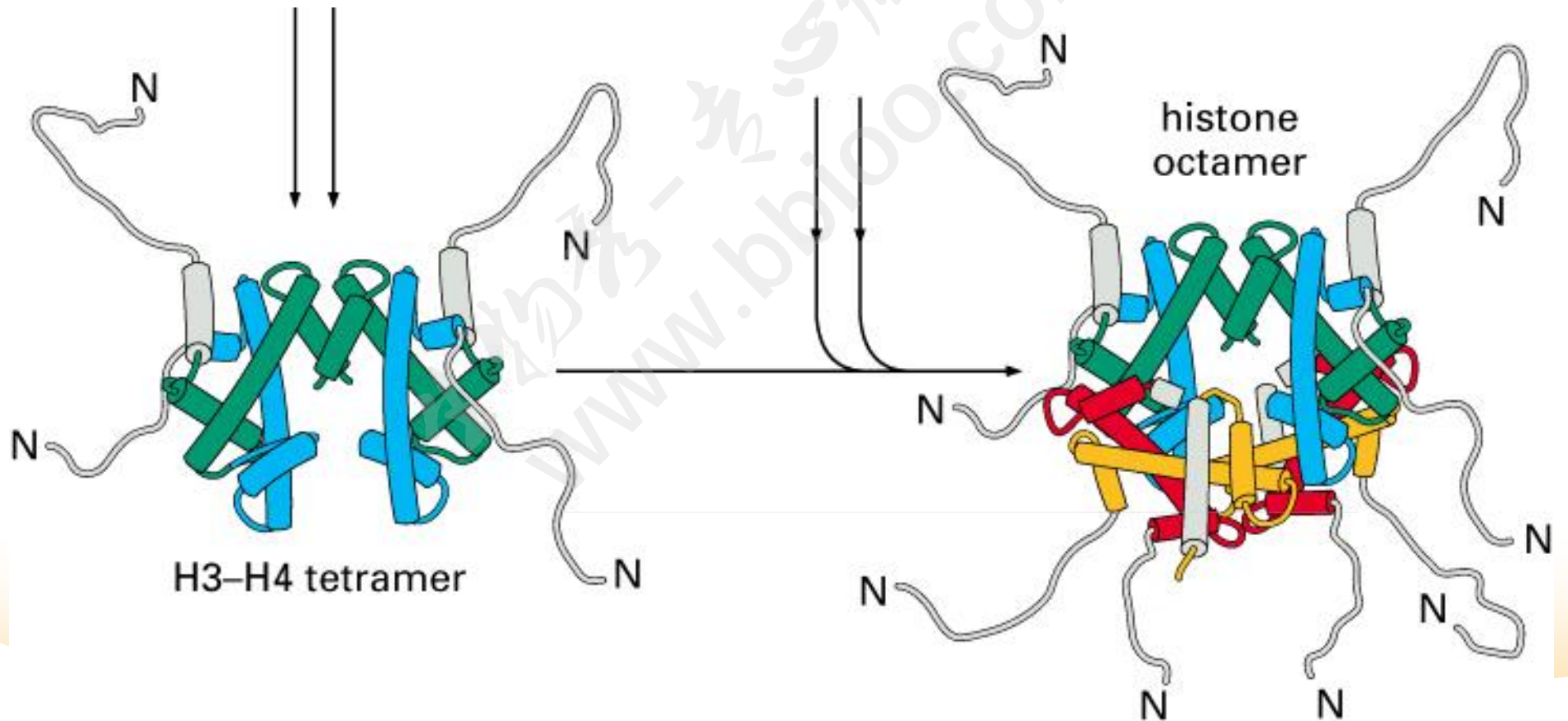
- 二聚体: H3 & H4,
H2A & H2B



核心组蛋白 (3)



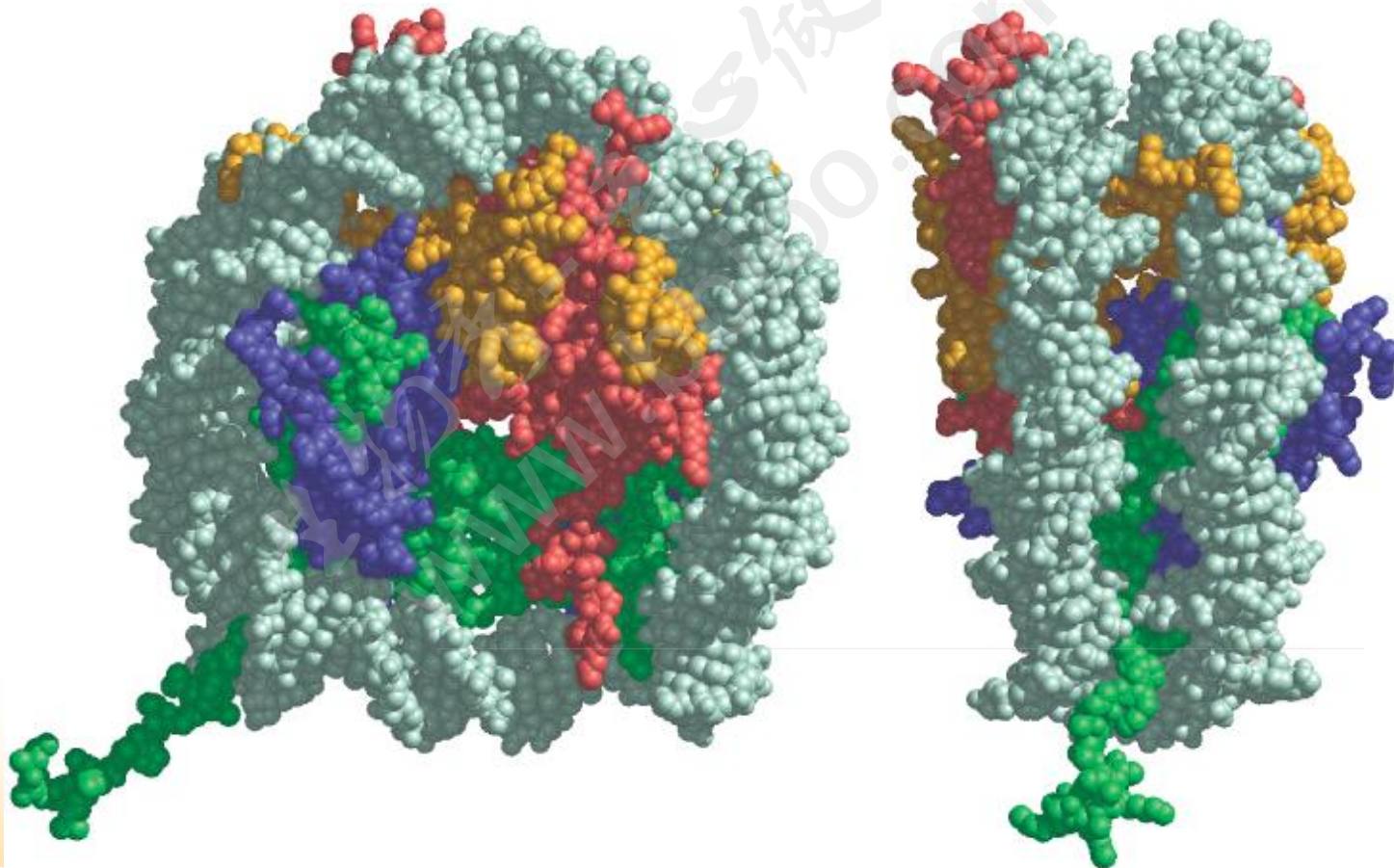
四聚体 vs. 八聚体



核小体



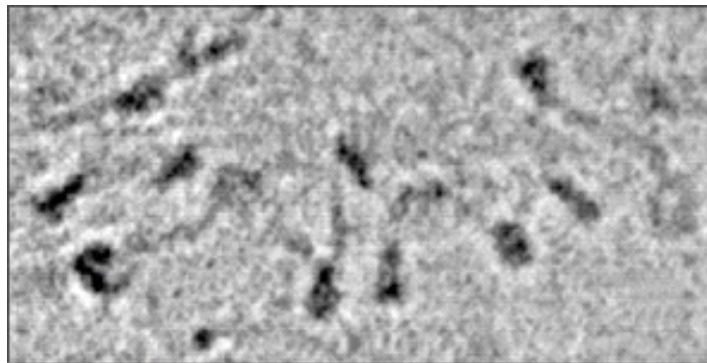
- DNA序列缠绕在核心组蛋白的八聚体上



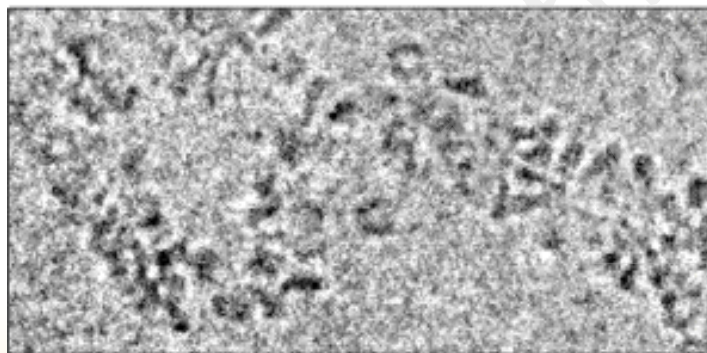
核小体



- 核小体呈致密或疏松状态，形成30nm的染色体纤维

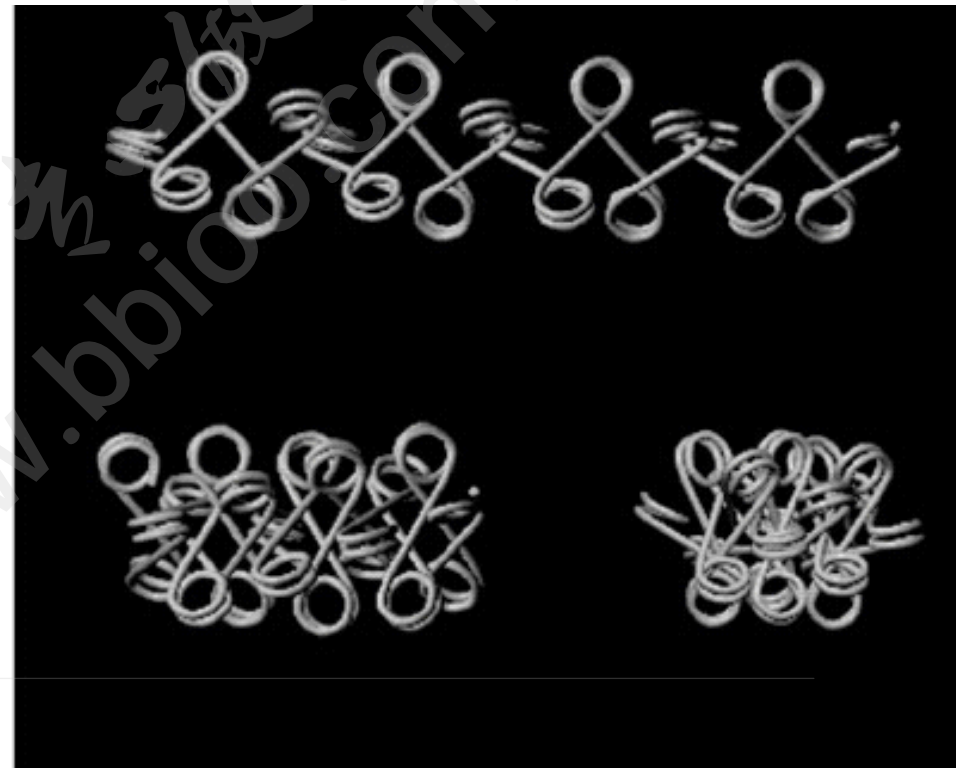


(A)



(B)

50 nm

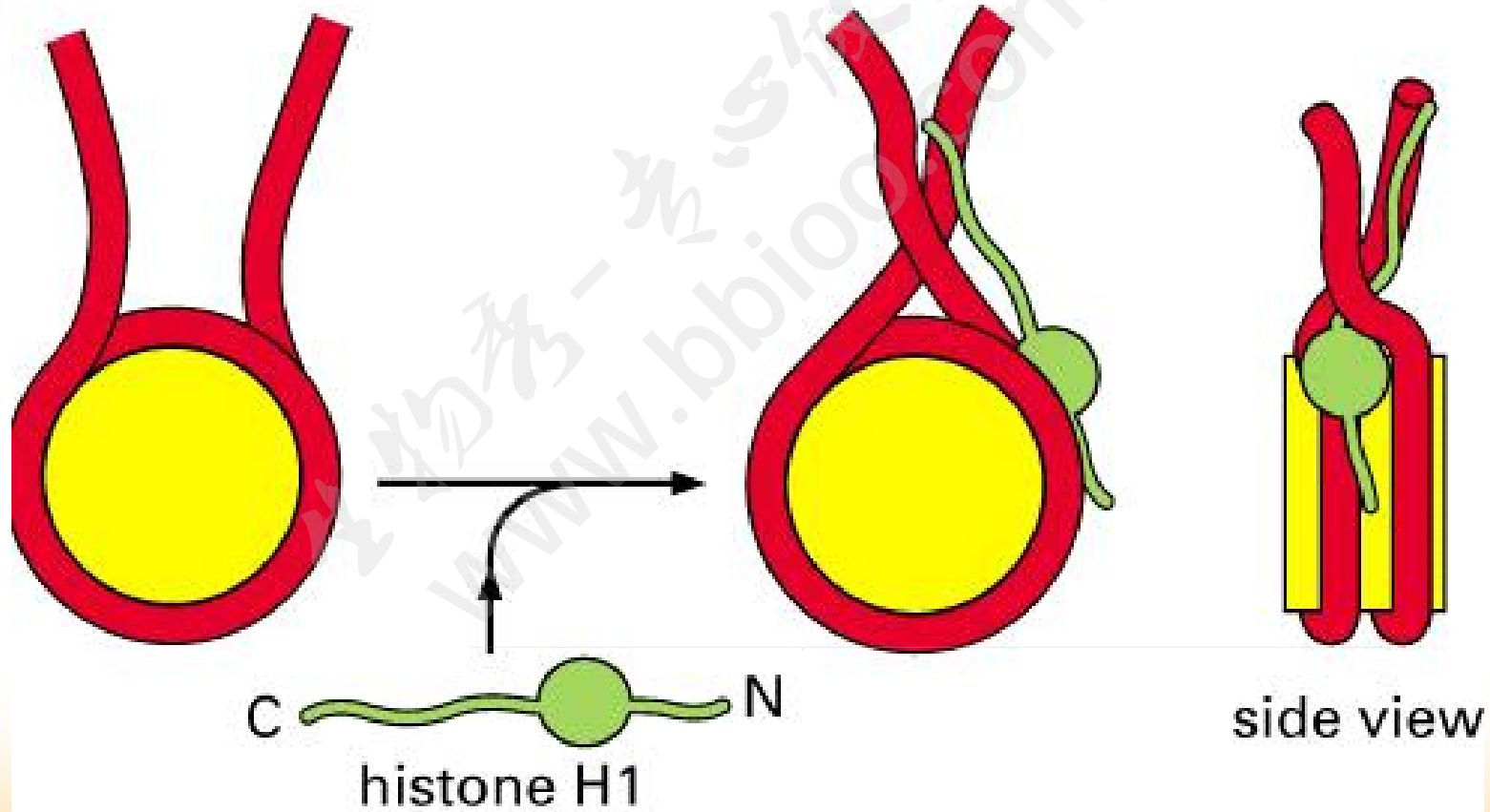


(C)

组蛋白H1



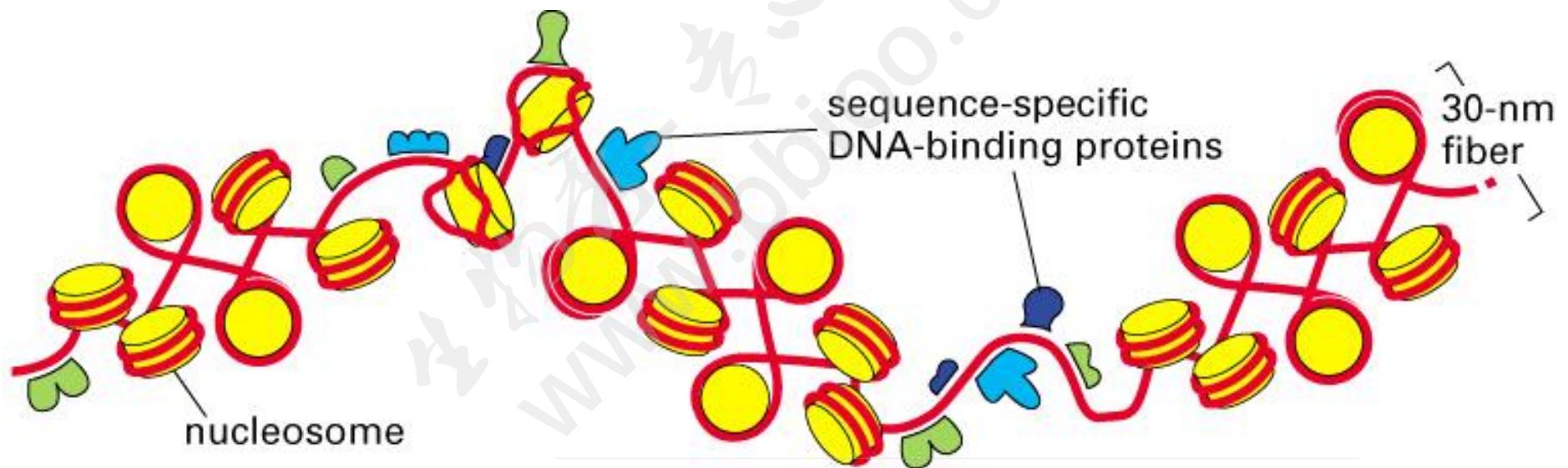
□ 确定核小体的边界



核小体分布的无规则性



- ❑ 1. 8~114bp的连接序列；
- ❑ 2. 序列特异性的DNA结合蛋白质结合裸露的DNA序列。



Naked & nucleosomal DNA



A



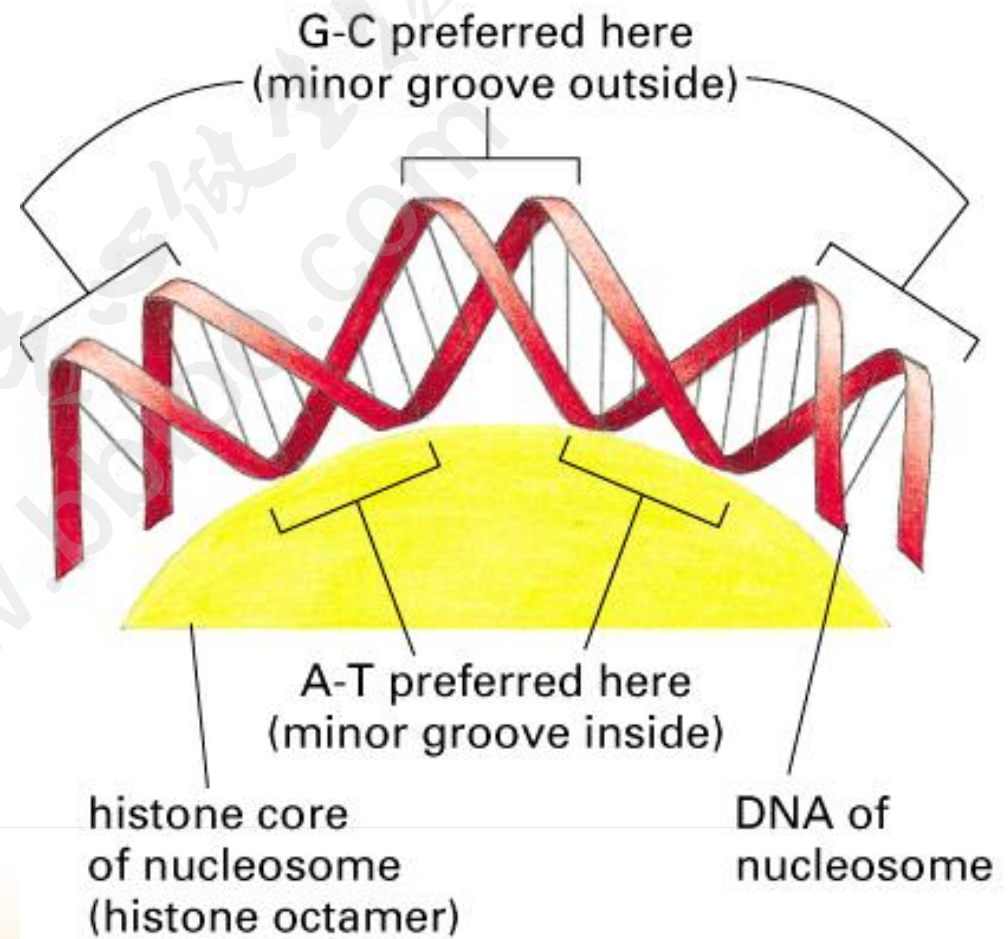
□ DNA组装到核小体上能够抑制识别特异性序列的转录因子的结合

□ DNase I切割：平均间隔~10bp

DNase I



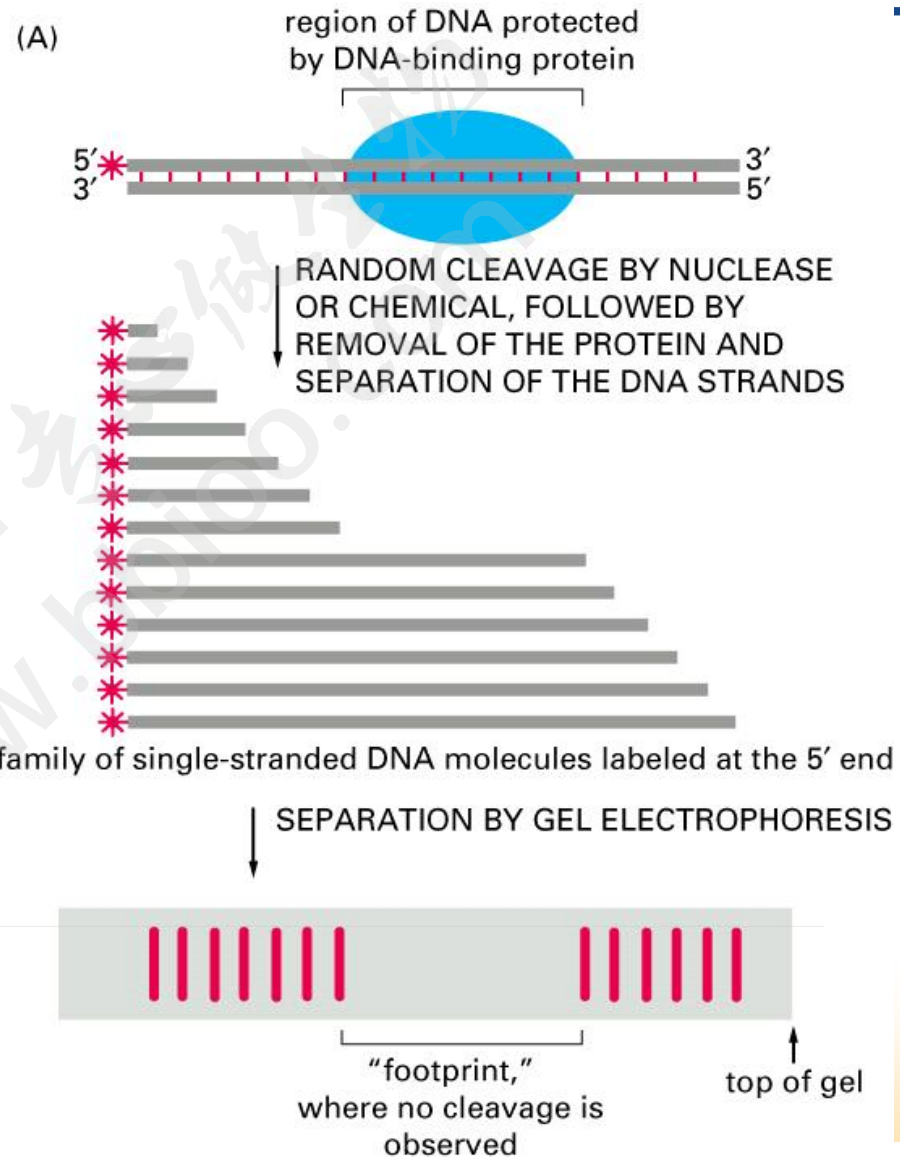
- ❑ DNase I与DNA双螺旋的小沟结合，并切断磷脂键；
- ❑ 固定于平整表面的DNA: 10.5bp/圈
- ❑ 核小体上的DNA: 10bp/圈



DNase Footprinting



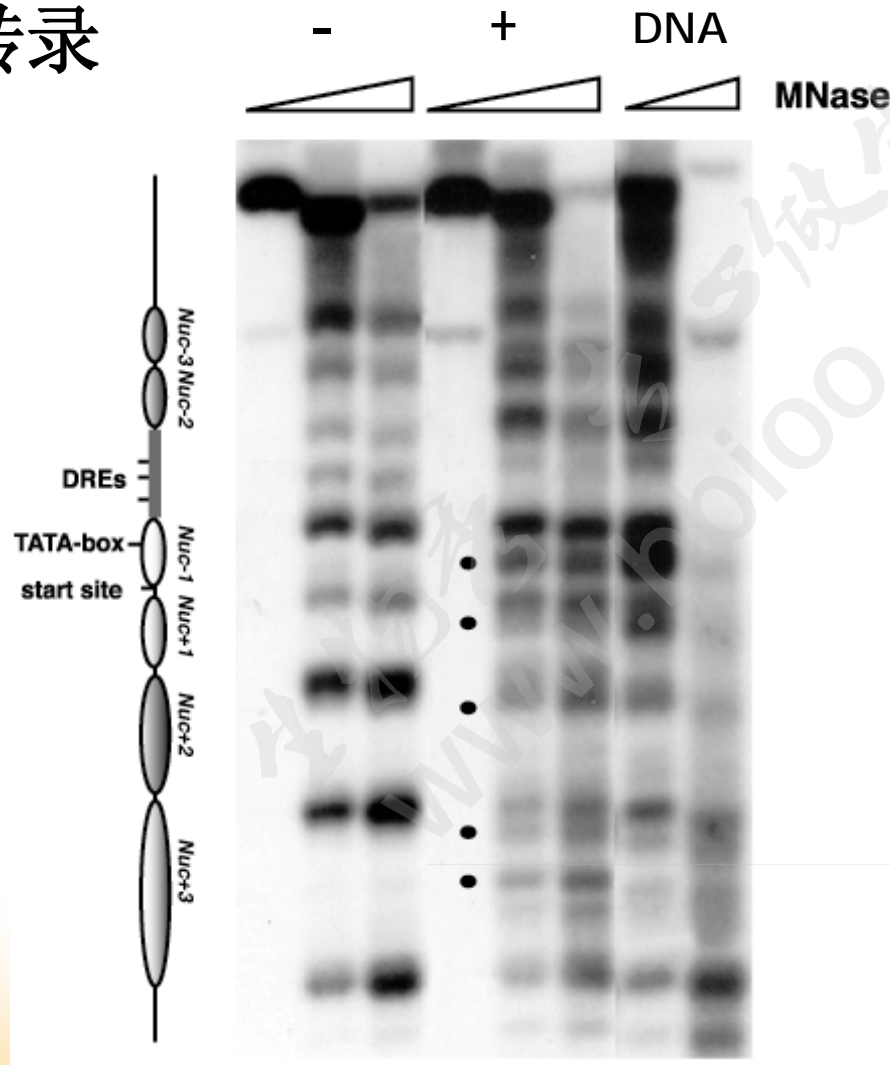
- 1. 当有转录因子与DNA结合之后，可观察到不能被切割的部分
- 3. 核小体：影响转录因子的结合





转录活性：染色质的改变

转录



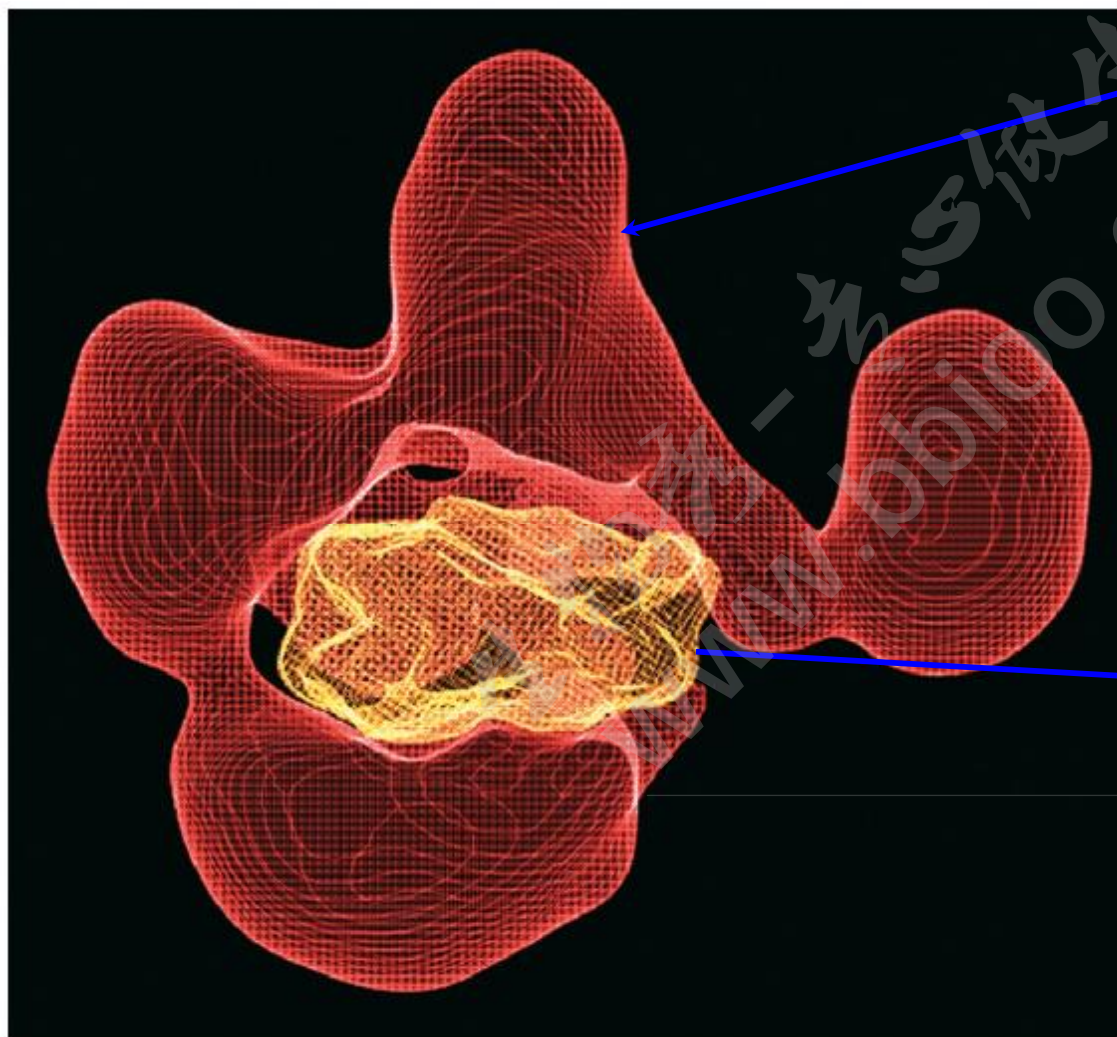
转录因子结合到基因的启动子区域



二、染色质重塑的假设步骤

- ❑ 1. 两类酶调控染色质重塑的过程：组蛋白修饰因子 (**histone modifiers**) 以及ATP依赖的染色质重塑因子 (**chromatin remodelers**)
- ❑ 2. 组蛋白修饰因子并不改变核小体的位置，而是在DNA上作标记，以招募其他的活性成分 (组蛋白密码)
- ❑ 3. 染色质重塑因子：水解ATP释放能量，从而改变染色质的结构
- ❑ 4. 染色质重塑因子复合物

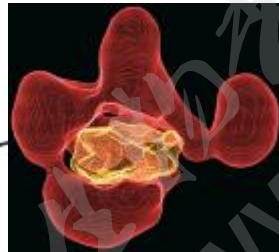
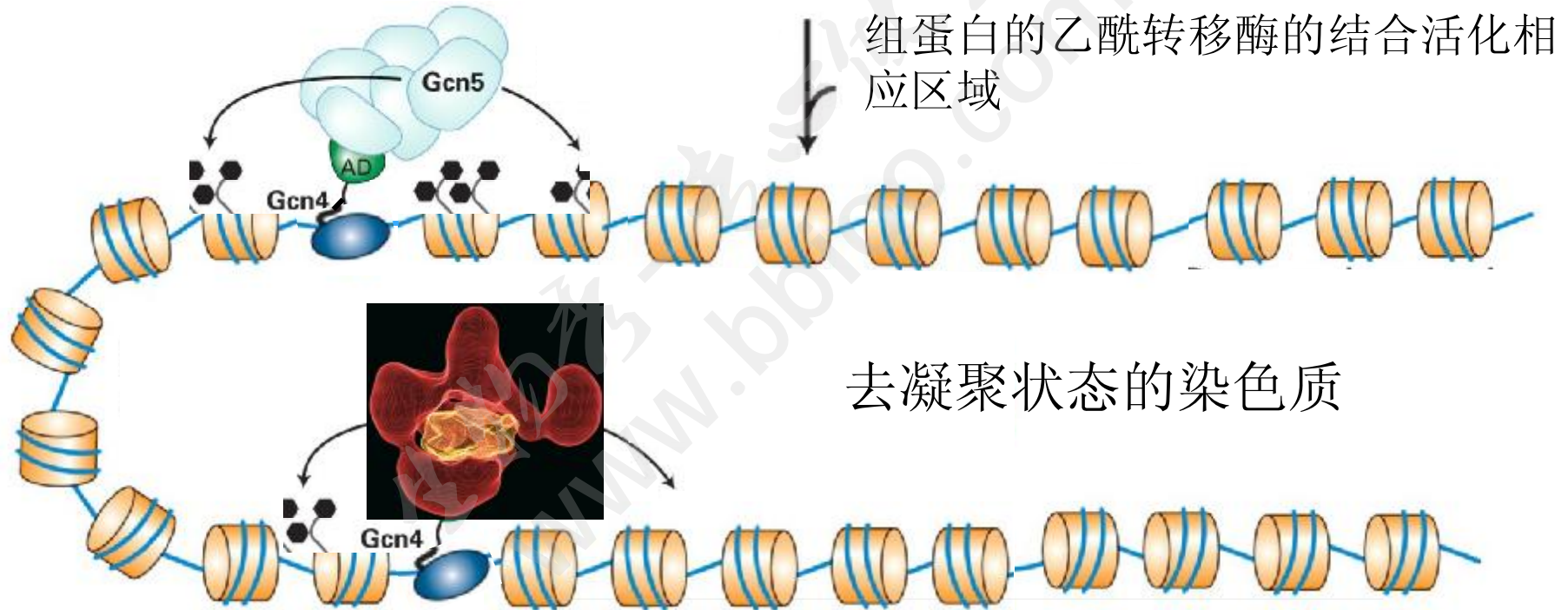
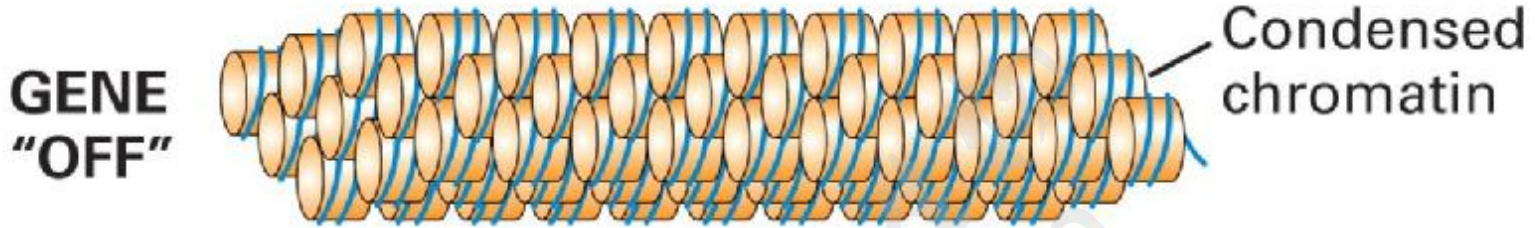
染色质重塑因子与核小体的相互作用

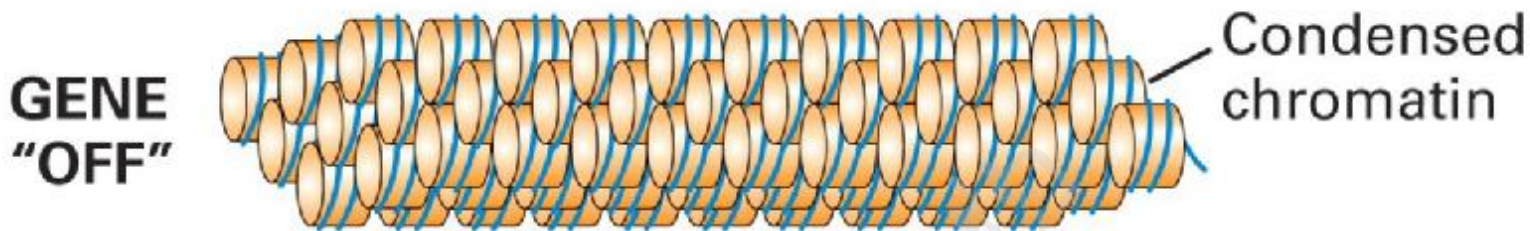


染色质重塑因子

核小体

活性染色质的产生





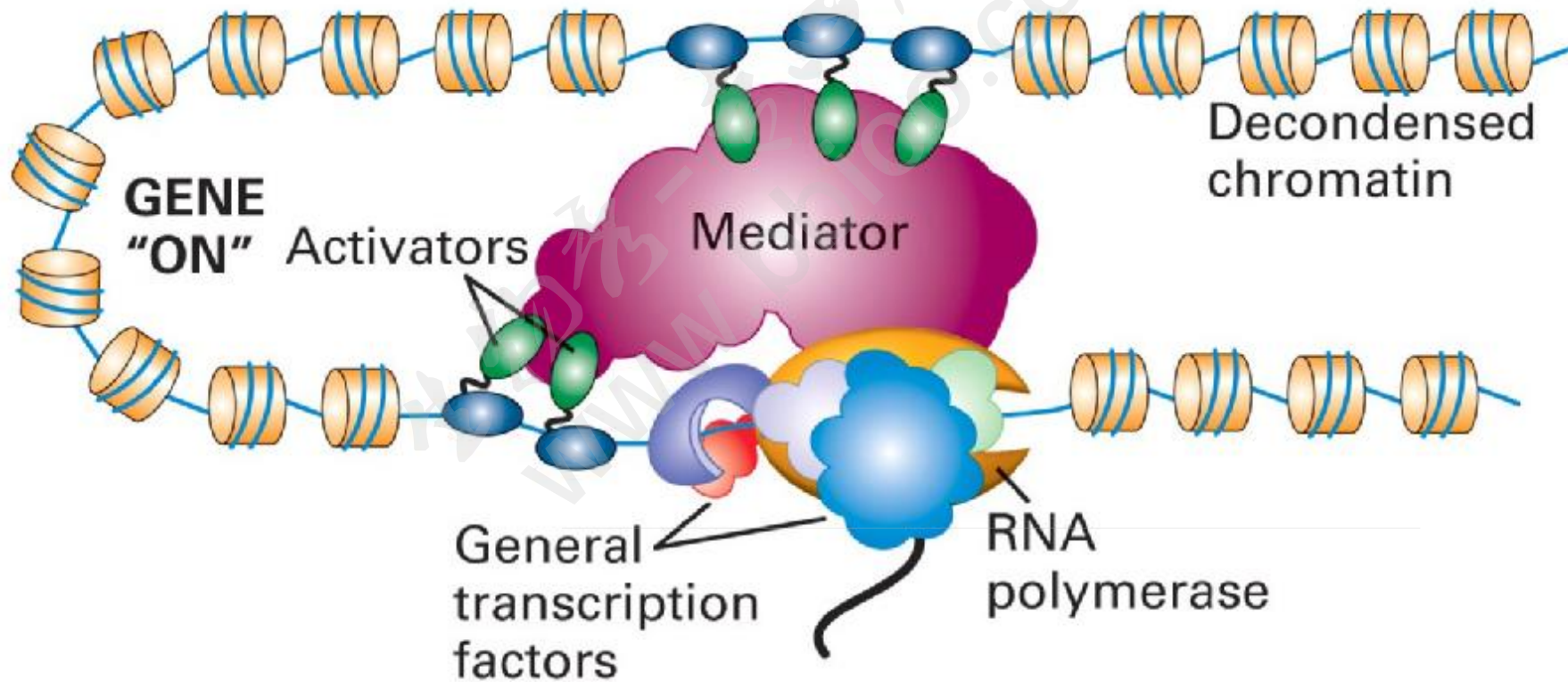
组蛋白去乙酰化酶
染色质重塑复合物

Repressors

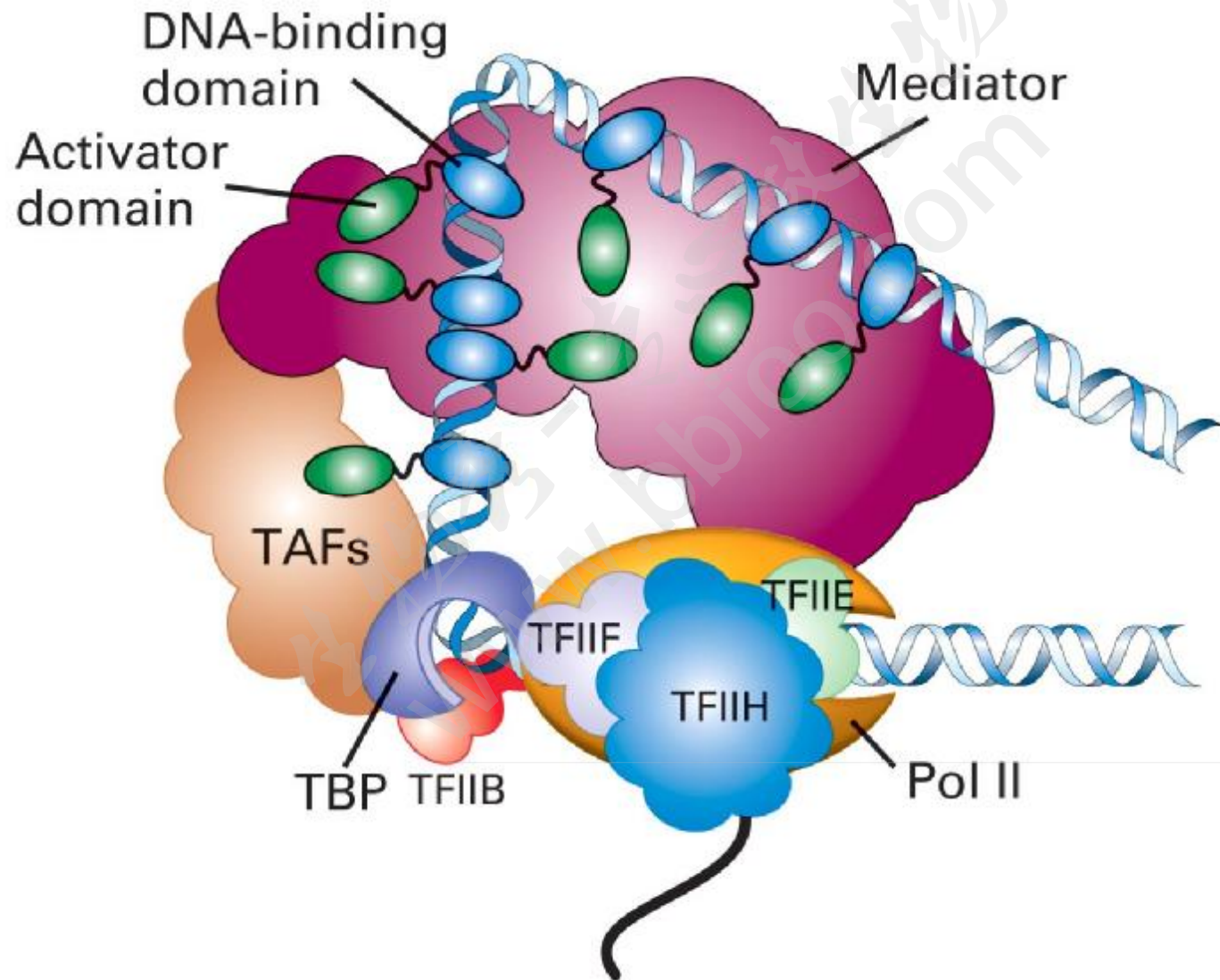


Activators

组蛋白乙酰化酶
染色质重塑复合物



Mediator-Pol II复合物：识别活化区域



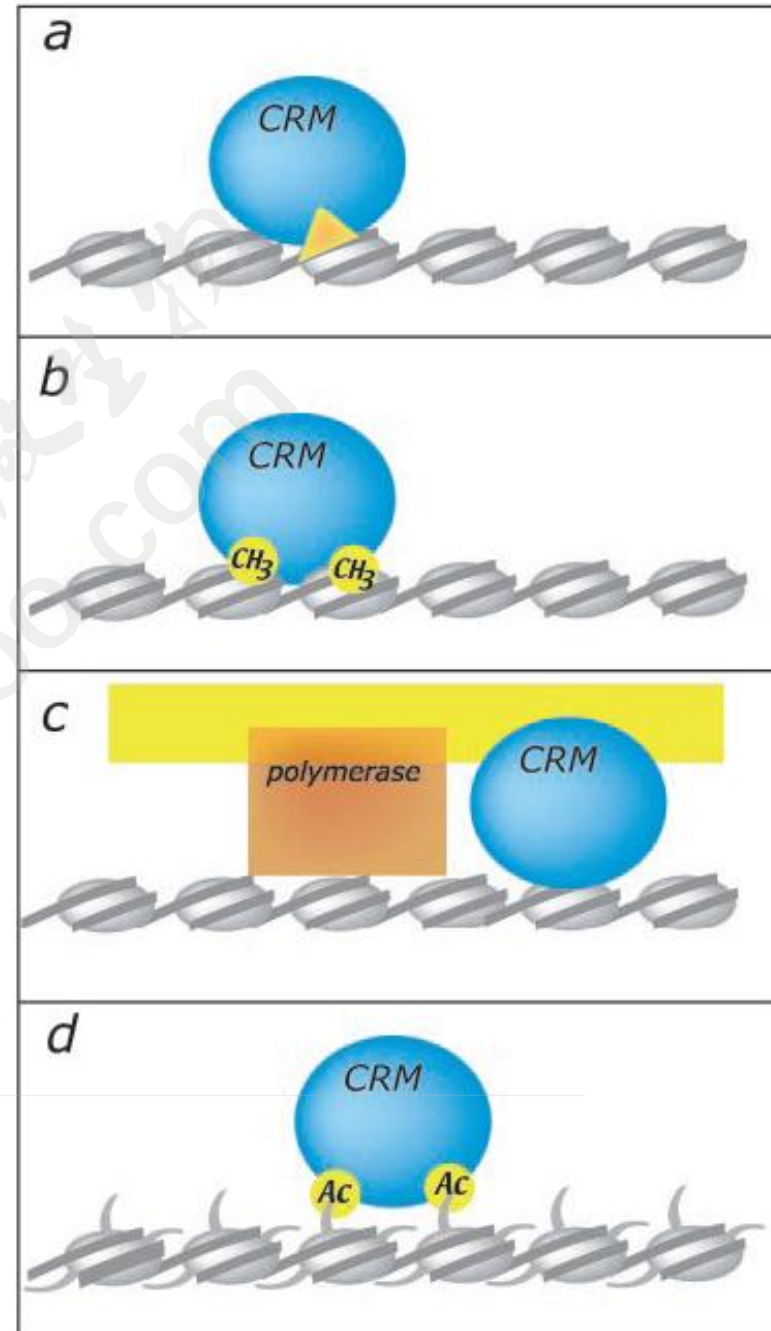
染色质重塑因子定位到核小体的主要模型



- ❑ 1. Non-targeting model: SWI/SNF通过随机的方式在染色体的任意位置上定位，当恰好存在至少一个DNA结合的转录因子的时候使得染色质的结构重塑；
- ❑ 2. Pol II association: 一部分的SWI/SNF通过RNA pol II的作用连接到特定的核小体上；
- ❑ 3. Targeting by transcription factors: SWI/SNF通过转录因子的介导定位到特定位置上。

其他模型

- ❑ CRM: chromatin remodeling machines
- ❑ a. DNA结合蛋白的介导
- ❑ b. 甲基化DNA的介导
- ❑ c. 骨架actin的介导
- ❑ d. 乙酰化组蛋白的介导

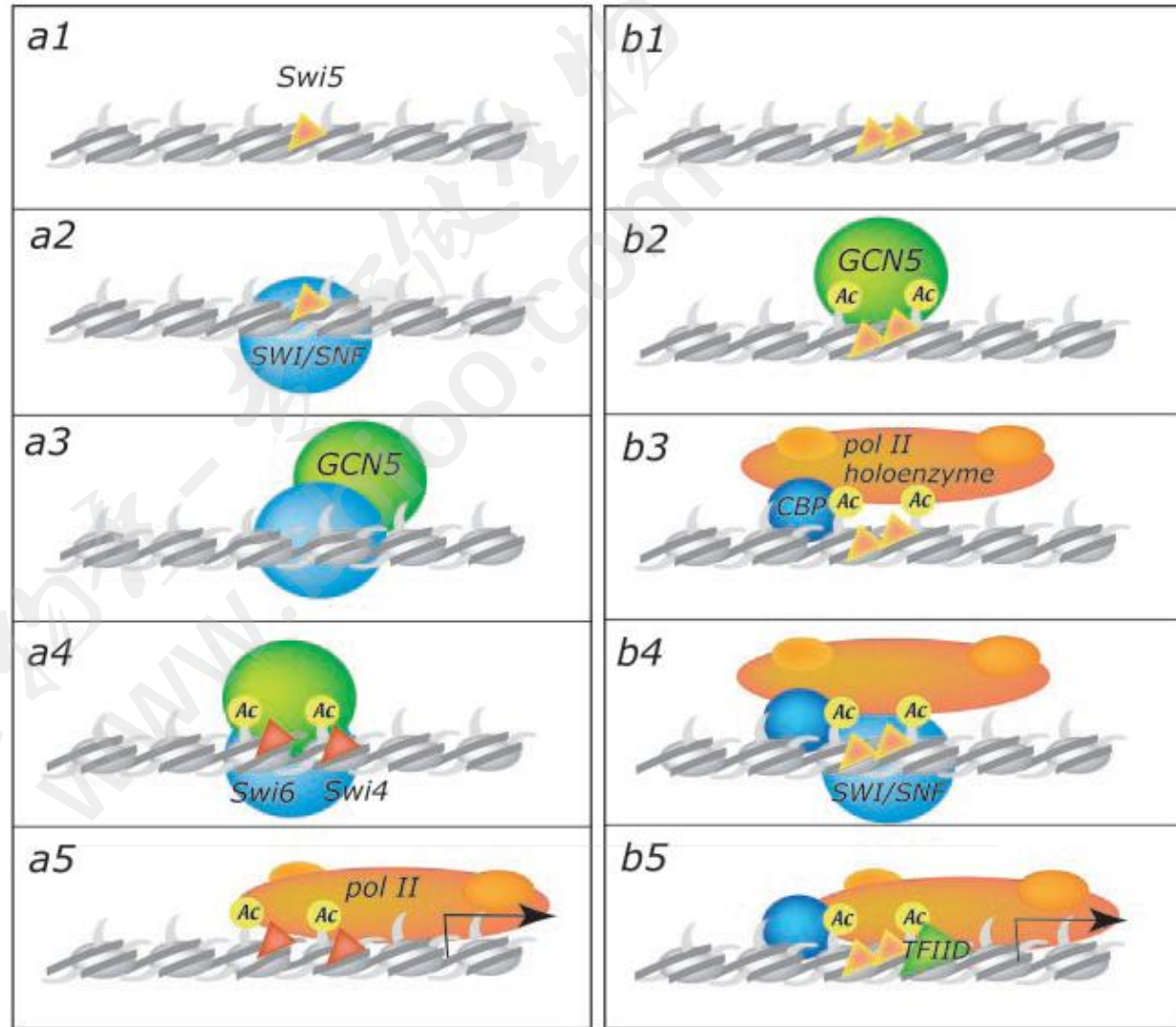


染色质重塑的步骤



□ a. HO

□ b. interferon- β

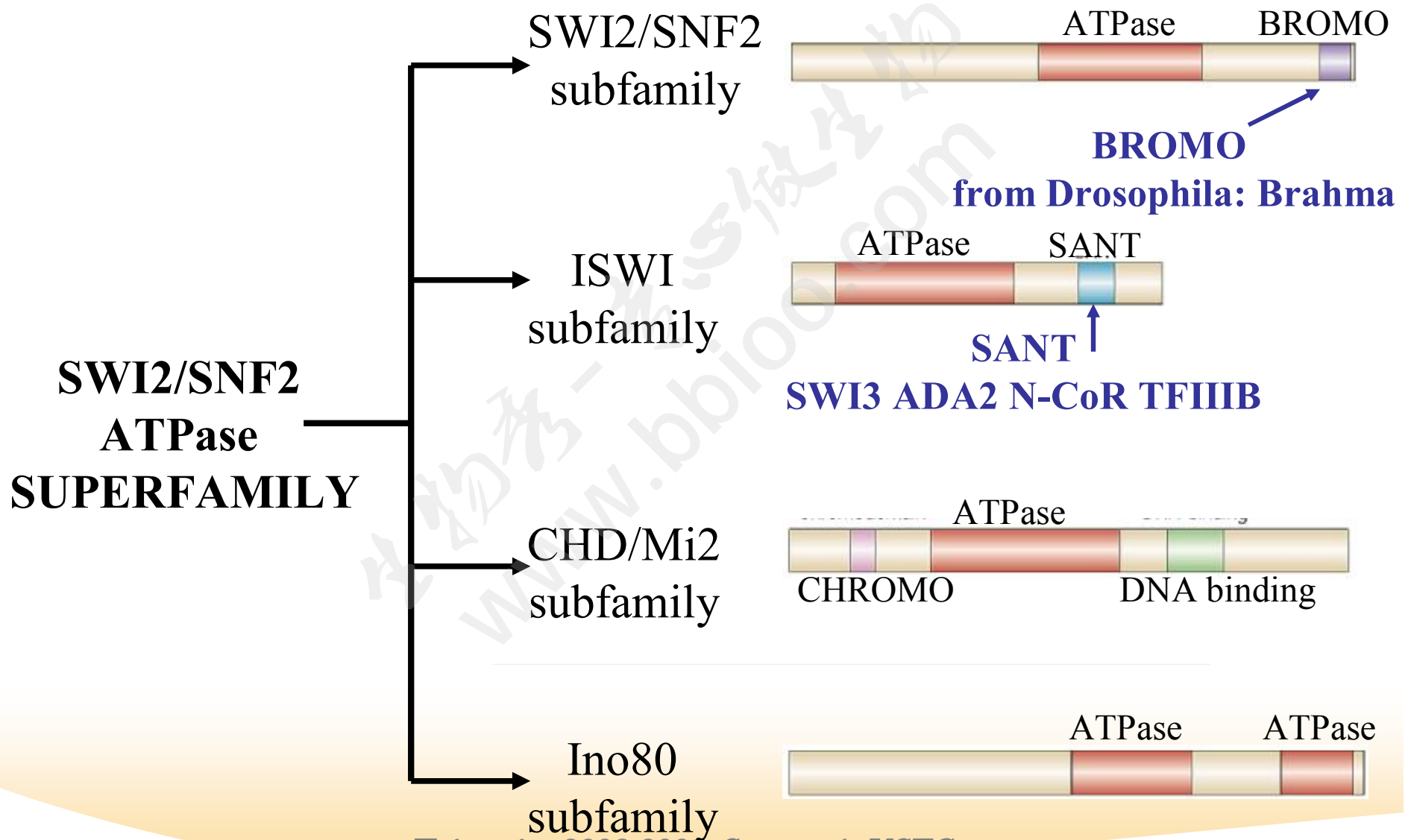


三、染色质重塑复合物的种类与功能



- 1. 染色质的重塑因子通过利用ATP水解释放的能量，将核小体重新排布，从高度致密的染色质上解开；
- 2. 染色质重塑因子 (Chromatin remodeling factors), ATPase, 按照蛋白质功能结构域的组成分类：
 - ✿ A. SWI/SNF因子 (mating type switching / sucrose non-fermenting).
 - ✿ B. ISWI因子 (Imitation switch)
- 3. 细胞中存在着各种不同的染色质重塑因子复合物：激活或者沉默基因的表达

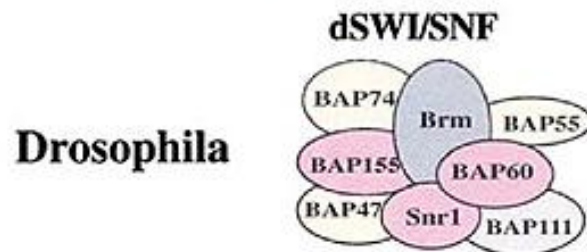
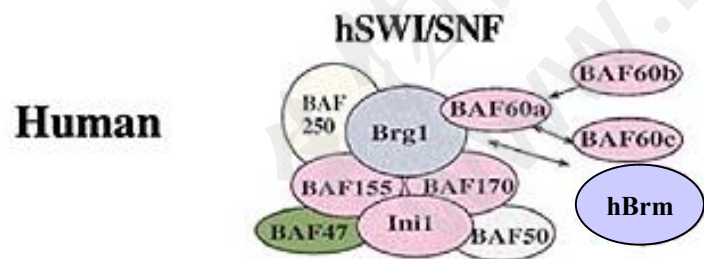
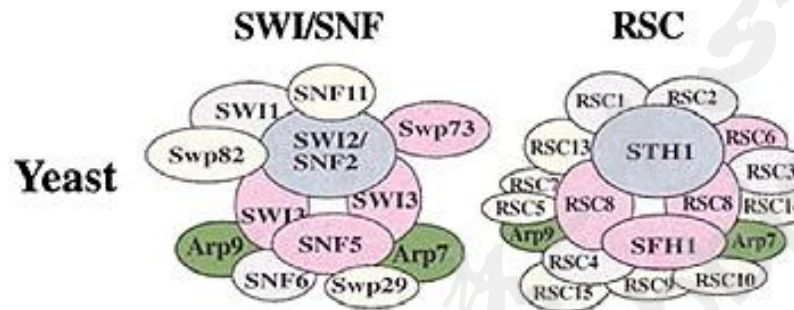
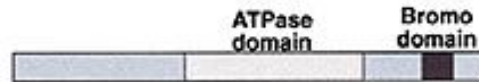
SWI/SNF



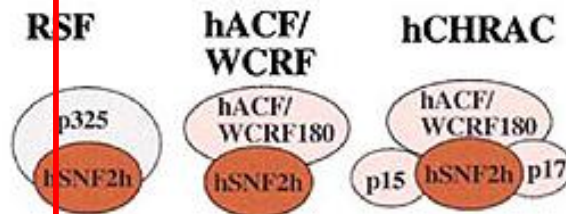
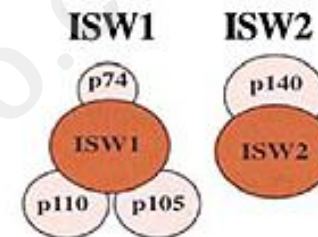
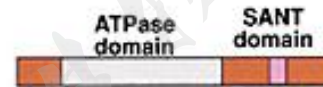
SWI2/SNF2



SWI2/SNF2 subfamily



ISWI subfamily



染色质重塑复合物

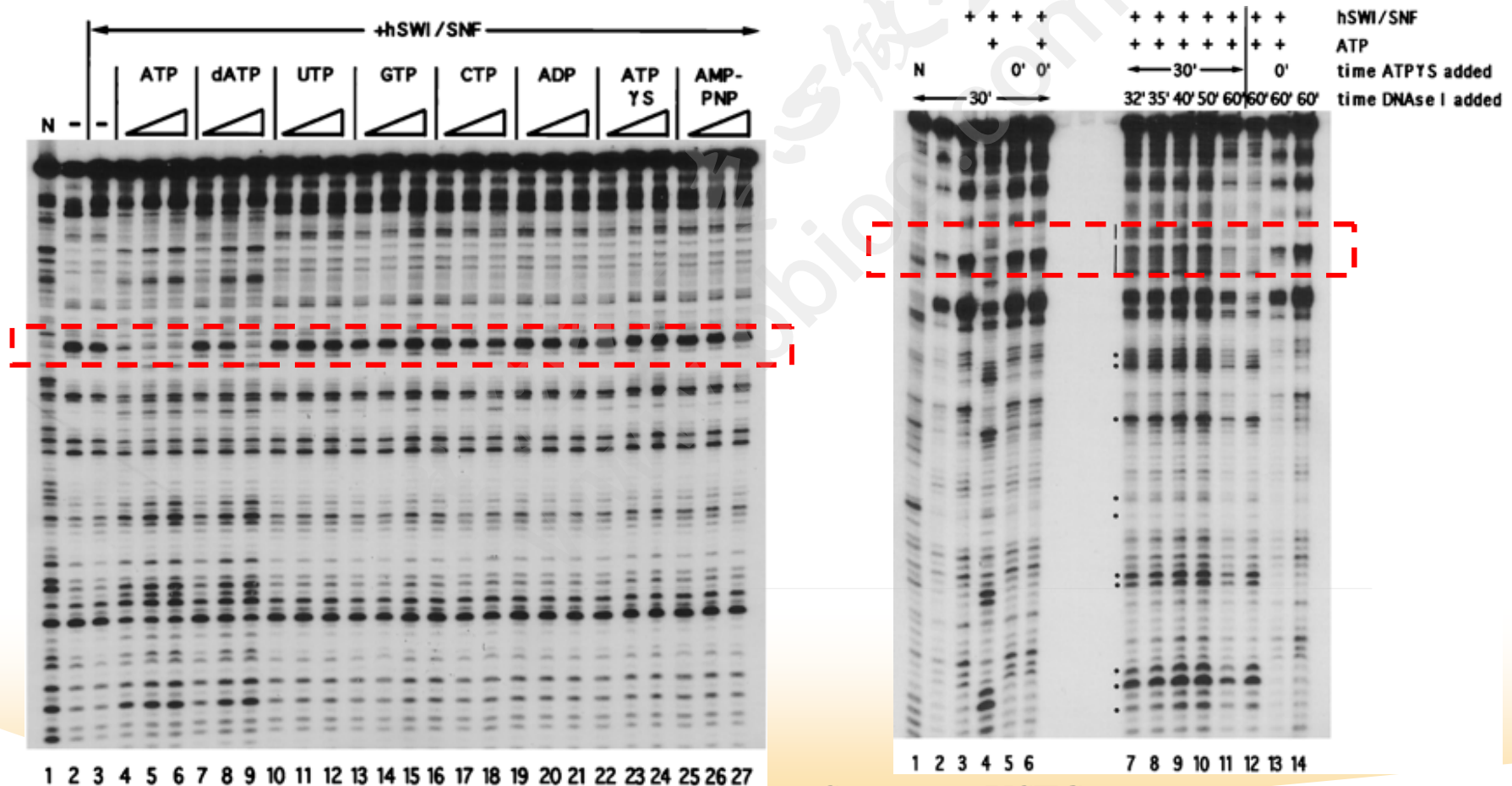


Yeast		Drosophila		Human	
SW/SNF	RSC	BAP	PBAP	BAF	PBAF
Swi2/Snf2	Sth1	Brahma	Brahma	BRG1 or hBRM	BRG1
Swi1/Adr6		OSA		BAF250	
	Rsc1, Rsc2, Rsc4		Polybromo		Polybromo/BAF180
	Rsc9*		BAP170*		
Swi3	Rsc8	Molra	Molra	BAF170 & BAF155	BAF170 & BAF155
		BAP111	BAP111	BAF57	BAF57
Swp73	Rsc6	BAP60	BAP60	BAF60a	BAF60a or BAF60b
Swp61/Arp7	Rsc11/Arp7	BAP55	BAP55	BAF53	BAF53
Swp59/Arp9	Rsc12/Arp9				
		actin	actin	actin	actin
Snf5	Sfh1	Snr1	Snr1	hSNF5/INI1	hSNF5/INI1
	Rsc5, 7, 10, 13-15				
	Rsc3, Rsc30				
Swp82					
Swp29/Tfg3/TAF30/Anc1					
Snf6, 11					

SWI/SNF的功能



- ❑ 1. ATP或者dATP能够促使SWI/SNF重塑核小体
- ❑ 2. 核小体重塑之后不能自发变回致密状态



Pc-G vs. trx-G: 表观遗传调控因子

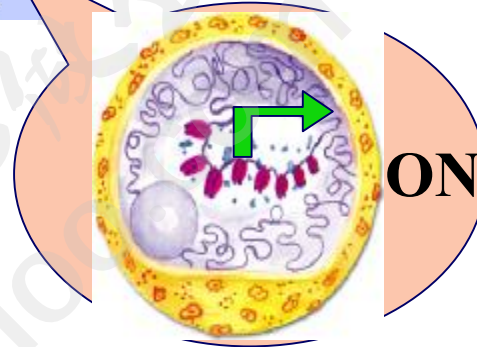
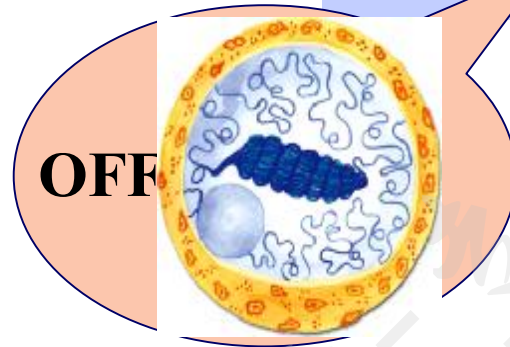


- 1. 最早在果蝇中发现，是同源异型基因表达的上游调控因子，在细胞分化和增殖的过程中有着重要的作用；
- 2. PcG: 沉默基因的表达； trxG (Brahma) : 激活基因的表达
- 3. 在进化过程中高度保守



PcG, trxG: 基因表达的特异性

发育的早期
发育模式的确定



Polycomb-Group



OFF



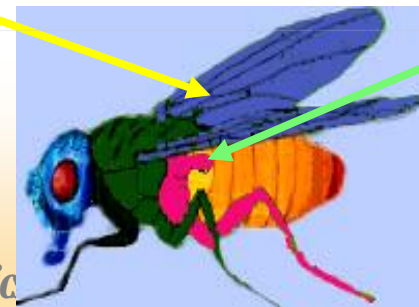
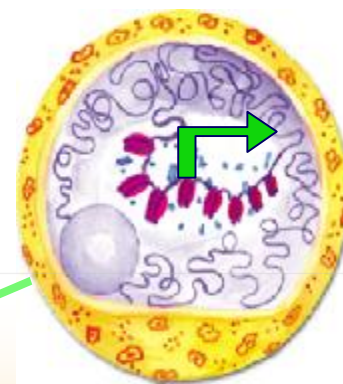
Maintenance phase

Transmission of pattern after disappearance of early factors

trithorax-Group



ON



Pc-G vs. trx-G: 拮抗



Fab-7
Pc -/+

Fab-7
Pc +/+

Fab-7
trx -/+

Fab-7
trx +/+



PcG, trxG: 定位于染色体上不同的位置



- ❑ 果蝇的Brahma (trxG)定位于染色体的活性区域
- ❑ Brahma (trxG)与Polycomb几乎不共定位

PREs & TREs



- ❑ 1. PREs: 体内PcG特定结合的DNA位点
- ❑ 2. TREs: 体内trxG特定结合的DNA位点
- ❑ 3. 多个PREs或TREs能够增强基因抑制或激活的能力

Pc-G vs. trx-G



Pc-G

trx-G

(PRE/TRE)

同源异型基因的表达

PRC1

Pc *M33/MPc1, MPc2, MPc3*
ph *Rae28/Mph1*
Psc *Mel18, Bmi-1*
Scm *Scmh1, Scmh2*
Pcl *M96*
Pho *YY1*
Su(z)2 *Mel18, Bmi-1*
dRING *Ring1a, Ring1b*

trx *Mll, Mll2*
trl
brm *Brm, Brg1*
mo *Baf155,*
Baf170
osa *Baf250*
snr1 *Baf47/Snf5*
z

SWI/SNF

PRC2

E(z) *Enx-1, -2/Ezh-1, -2*
esc *eed*
Asx *Asxl1, Asxl2*
crm

ash-1 *Ash1l*
ash-2 *Ash2l*
lid
kis

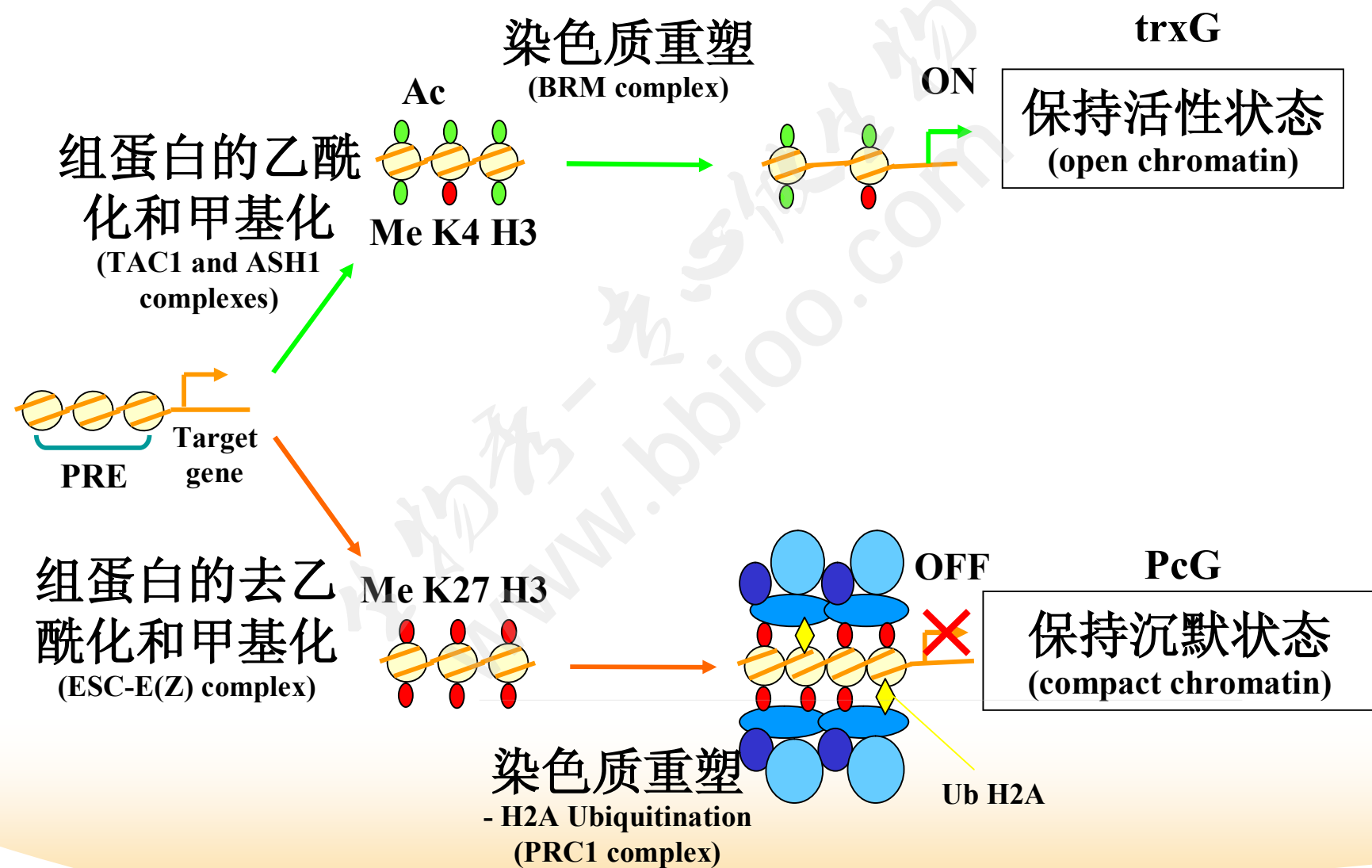
Pc-G vs. trx-G



PcG	Gene	protein motifs
PhoRC Complex	<i>Pleiohomeotic (pho)</i>	Zinc-finger (DNA binding)
Esc/E(z) Complex	<i>Enhancer of zeste (E(z))</i>	SET (H3K27MTase)
	<i>extra sex combs (esc)</i>	WD repeat
PRC1 complex	<i>Polycomb (Pc)</i>	chromo domain (Binding to H3 methyl K9 or K27)
	<i>polyhomeotic (ph)</i>	Zinc finger, SAM domain
	<i>Posterior sex combs (Psc)</i>	RING finger
trxG	Gene	protein motifs
FACT complex	<i>Trithorax-like (Trl)</i>	BTB/POZ (dimerization) Zinc finger (DNA binding)
TAC1 complex	<i>trithorax (trx)</i>	SET (H3K4HMTase)/ PHD-finger
	<i>Ash-1</i>	SET (H3/H4HMTase)/ PHD-finger
Brm complex	<i>brahma (brm)</i>	bromo domain (DNA dependent ATPase/helicase)

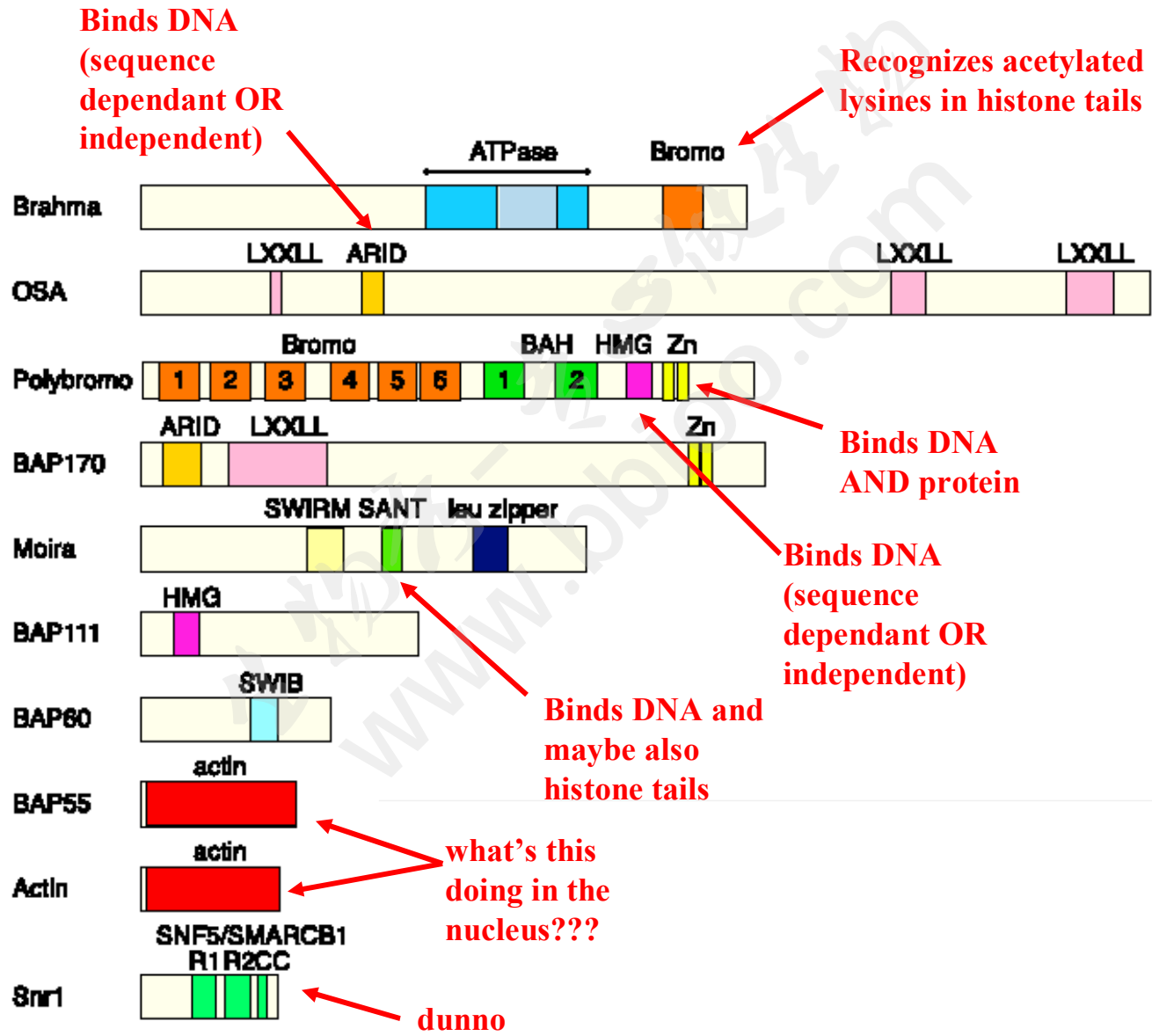


Pc-G vs. trx-G: 作用机制





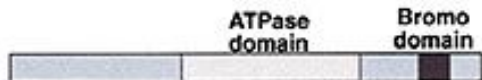
SWI/SNF复合物中的功能结构域



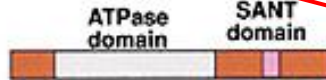


ISWI: 活性较低

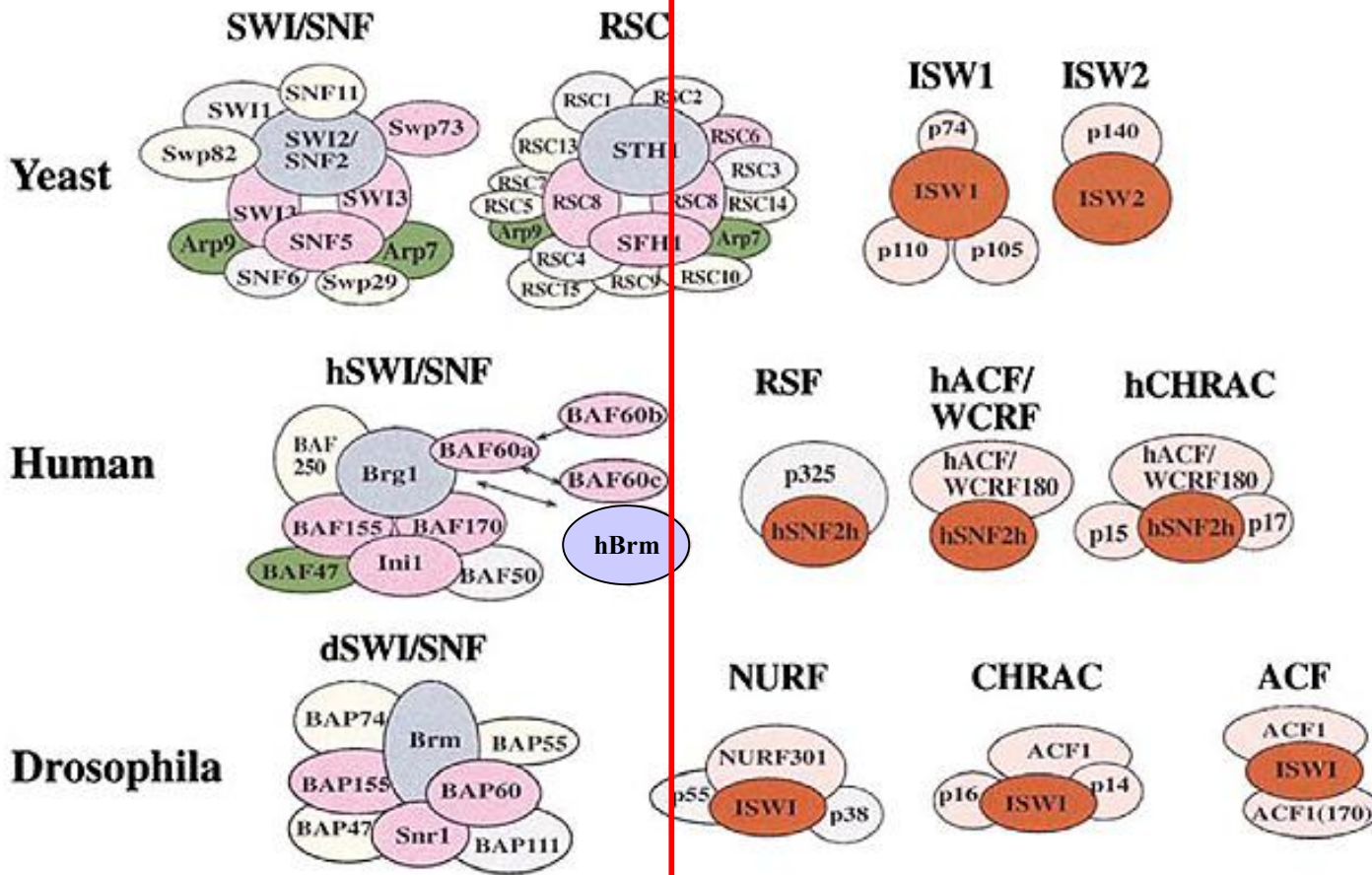
SWI2/SNF2 subfamily



ISWI subfamily



最早在果蝇中发现



SWI/SNF vs. ISWI: ATPase



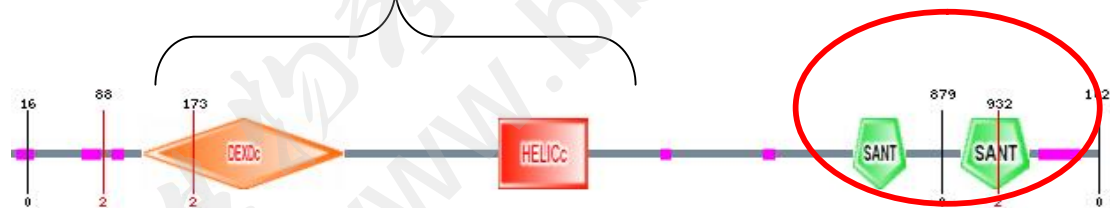
BRAHMA



ATPase结构域

结合乙酰化的
组蛋白

ISWI



结合DNA和组蛋
白的N端

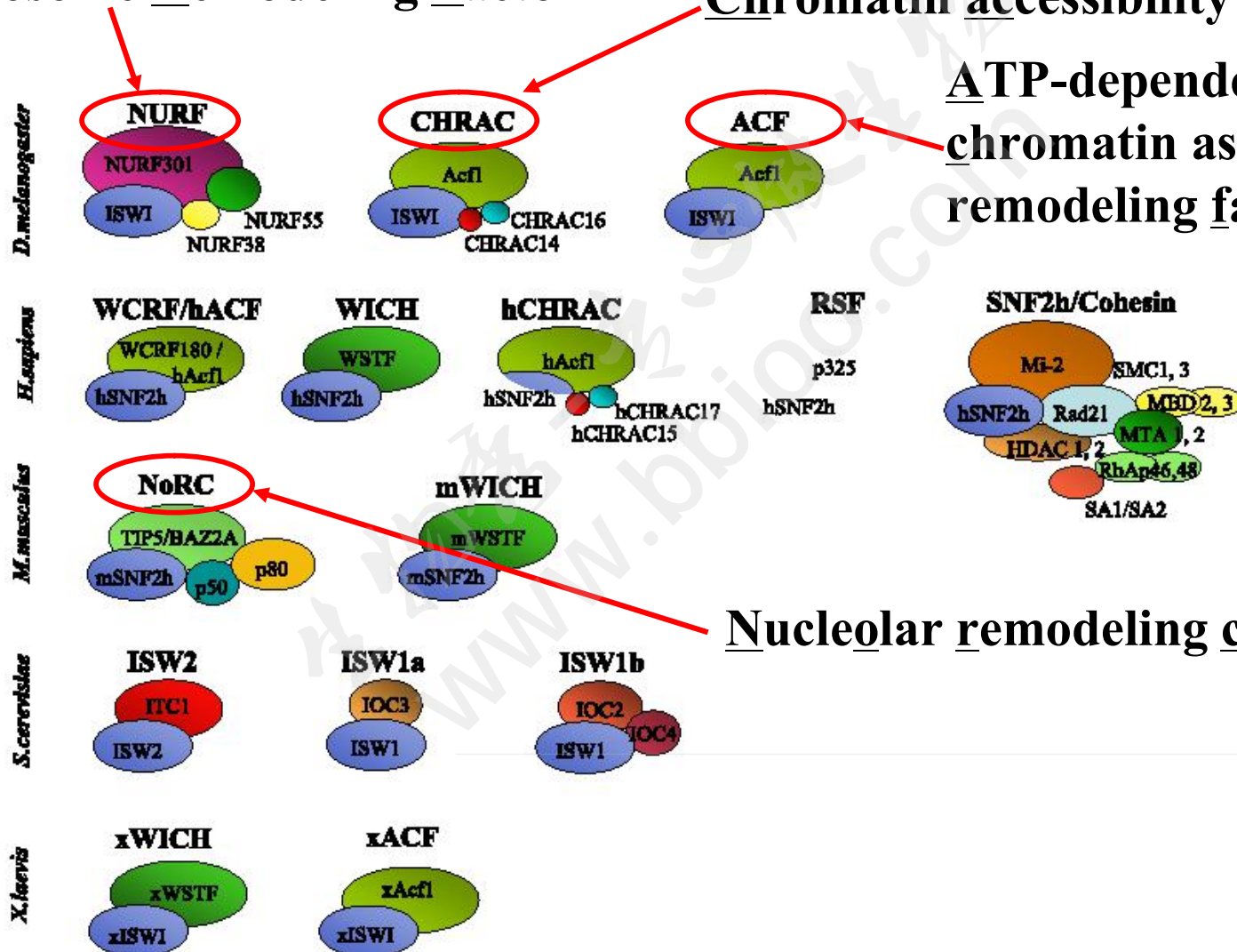
ISWI 复合物



Nucleosome Remodeling Factor

Chromatin accessibility complex

ATP-dependent chromatin assembly and remodeling factor



Nucleolar remodeling complex

ISWI 复合物

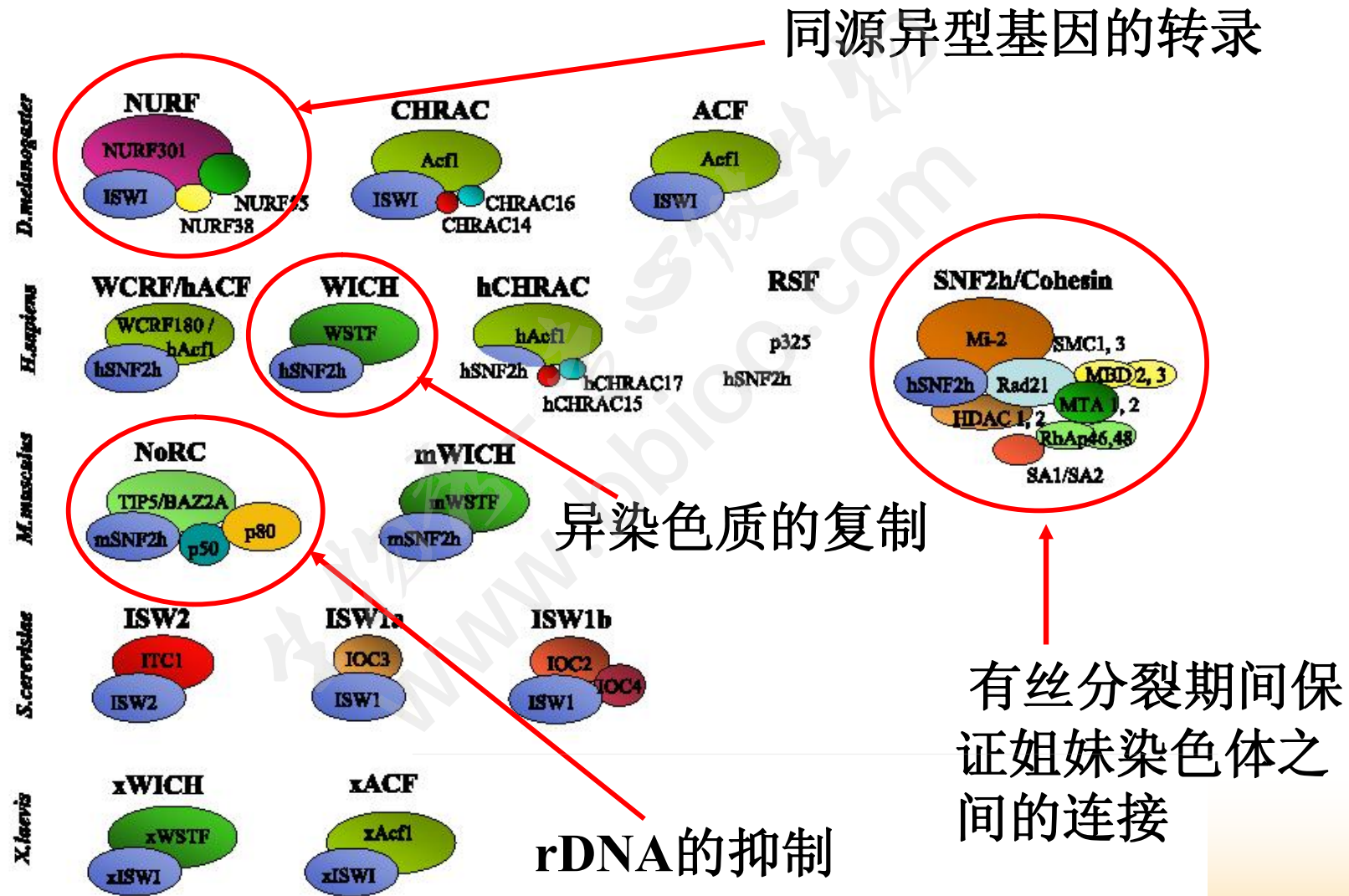
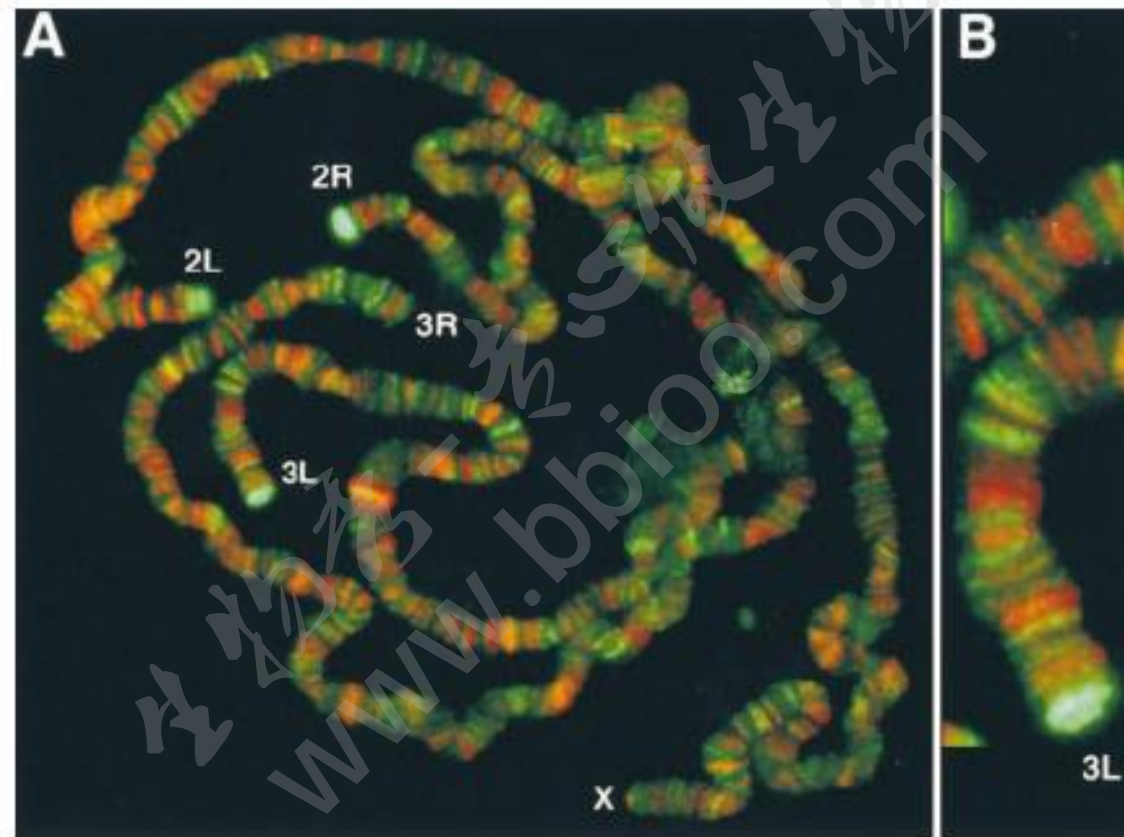


Fig. 1. ISWI family of chromatin-remodeling complexes.

ISWI分离间期在核内的定位



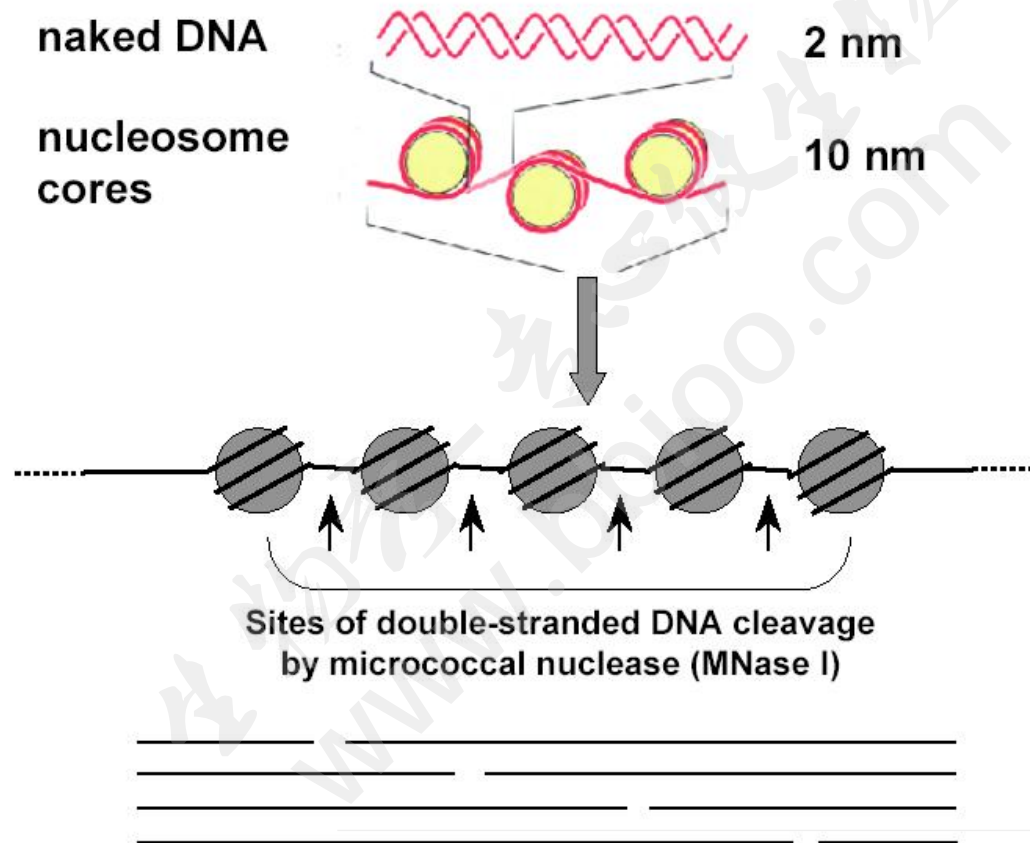
Deuring et al. (2000) Mol. Cell 5:355

- ❑ ISWI与RNA Pol II 几乎不重叠
- ❑ ISWI 可能与染色质的沉默有关

Epigenetics, 2008-2009, Semester 1, USTC



染色质结构分析的方法



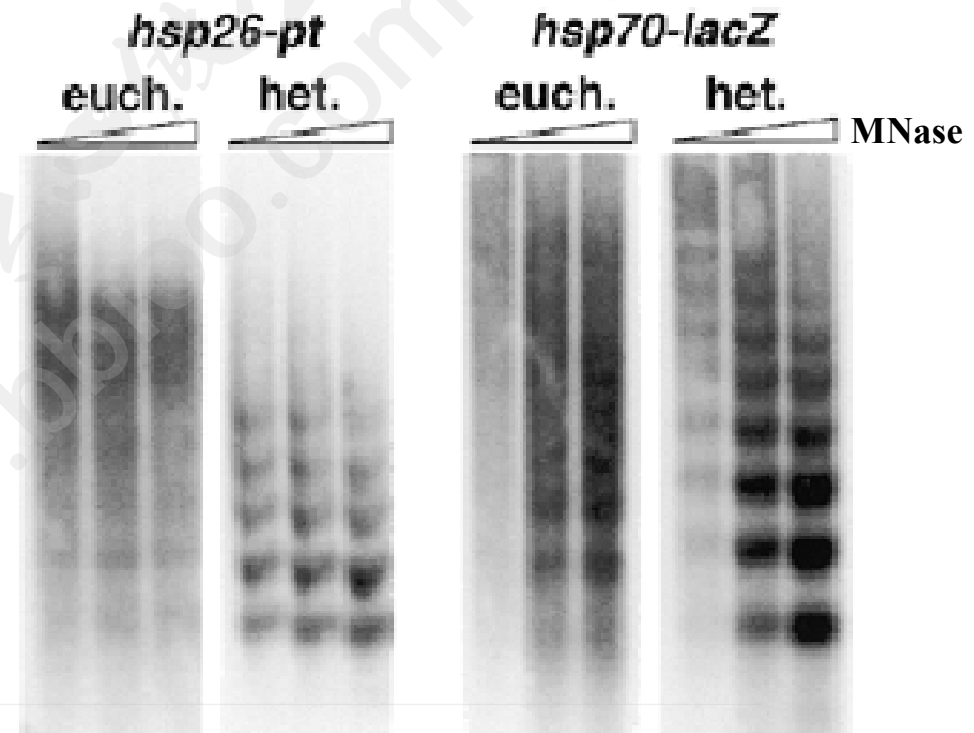
**Common method
for analyzing
chromatin structure**

1. Isolate nuclei
2. Add increasing amounts MNase I for fixed time
3. Purify DNA after deproteinization
4. Separate DNA on agarose gel
5. Stain w/EthBr or blot and hybridize w/specific probe

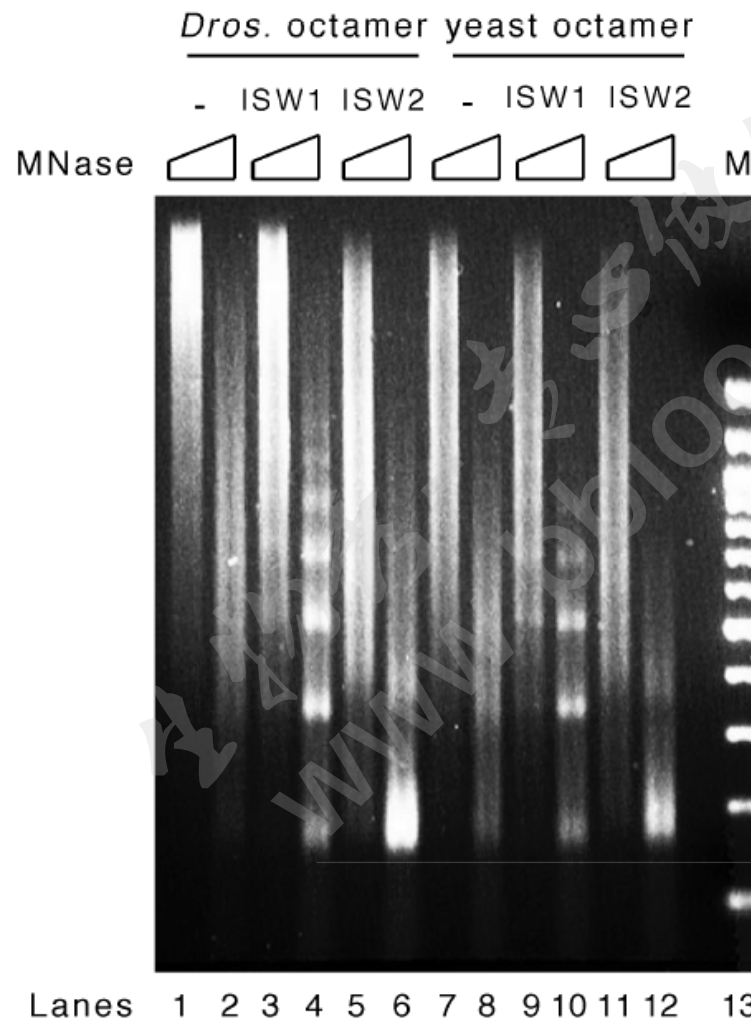


沉默的 vs. 活化的染色质

- 常染色质或者异染色质中的转基因
- 用 **micrococcal nuclease** 切割 DNA



ISWI ATPases: 形成核小体



总结: SWI/SNF & ISWI

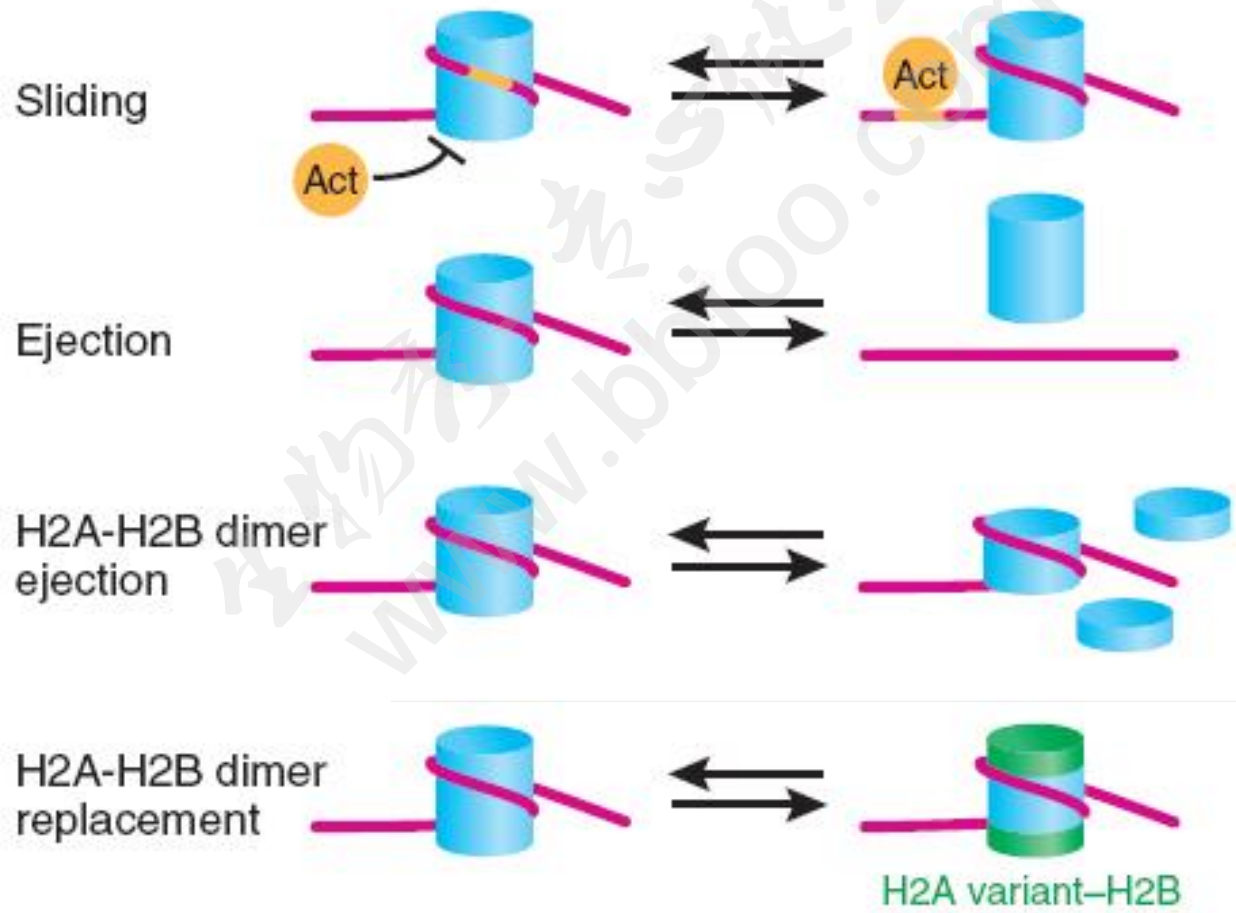


- 1. 主要的两类**ATPases**并构成大的复合物，形成染色质重塑复合物
- 2. 利用**ATP**的能量将核小体**DNA**重塑
- 3. **SWI/SNF**亚家族的成员通常与活化的染色质相关联，也可以与沉默的相关
- 4. **ISWI**亚家族与沉默的染色质相关，也可以起活化功能
- 5. 染色质重塑因子 **vs.** 染色质修饰因子

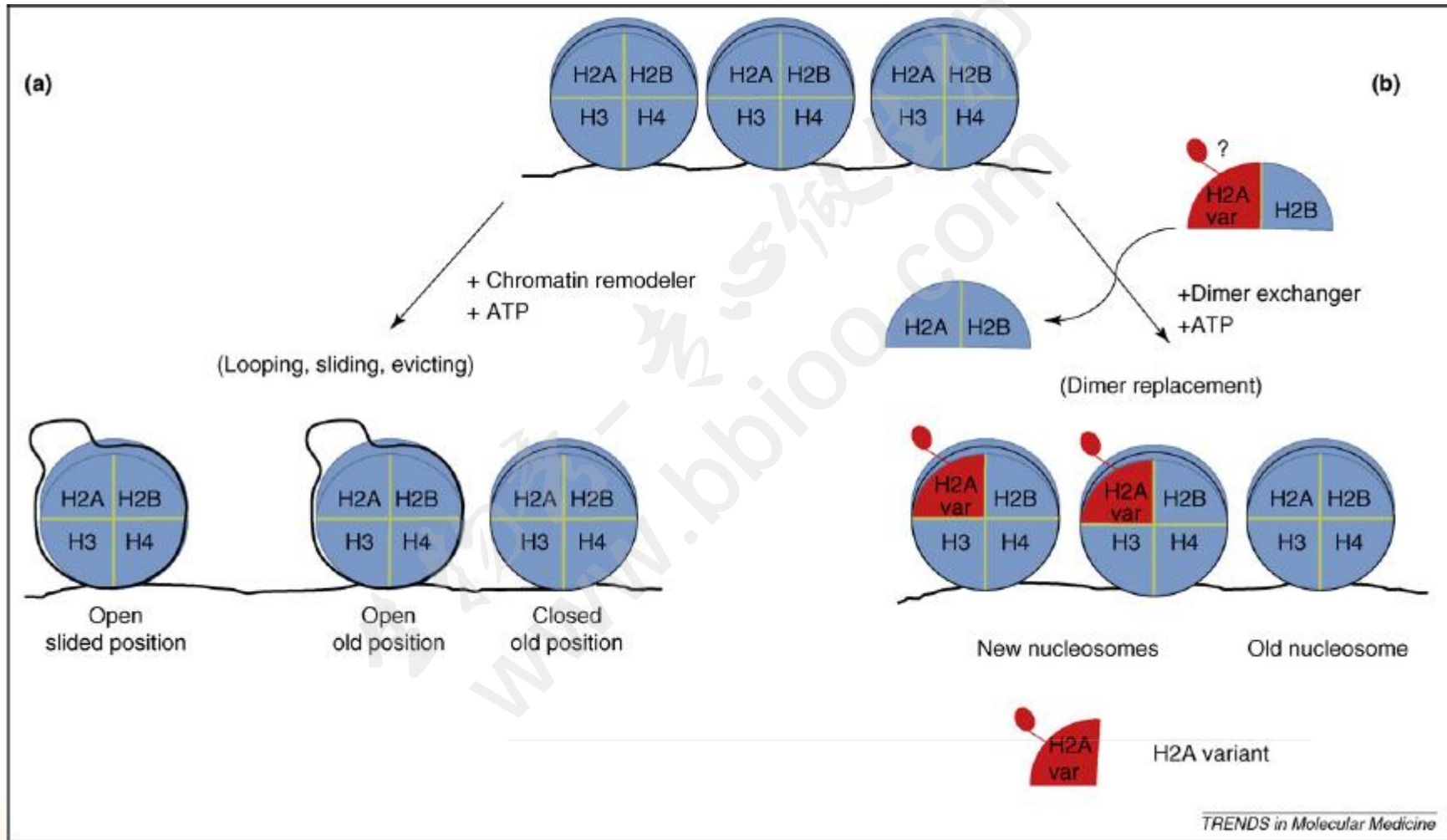


四、染色质重塑的几种模式

□ A、滑动； B、重建； C、分离； D、置换



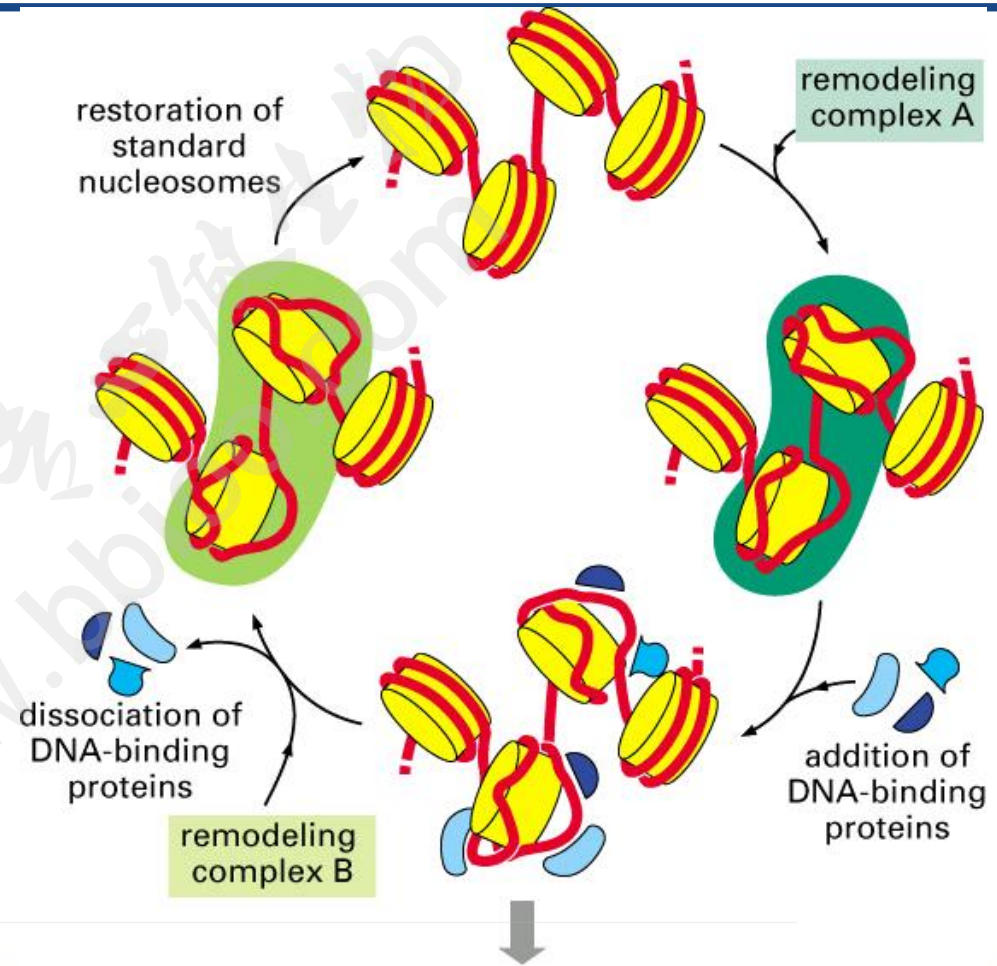
染色质重塑的几种模式



滑动和重建

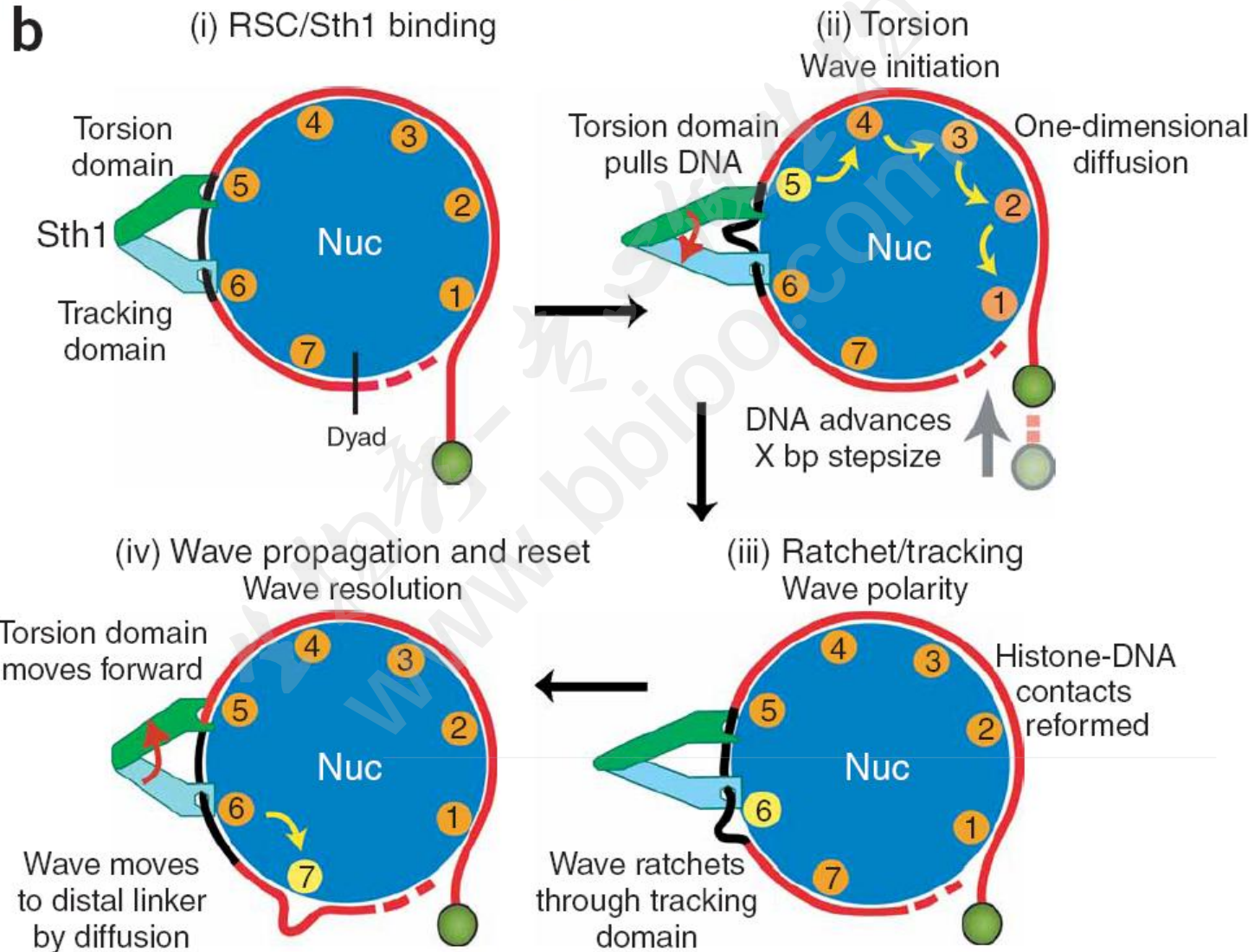


- 核小体上的DNA序列疏松，使得DNA结合蛋白能够与DNA结合



基因表达、DNA复制等

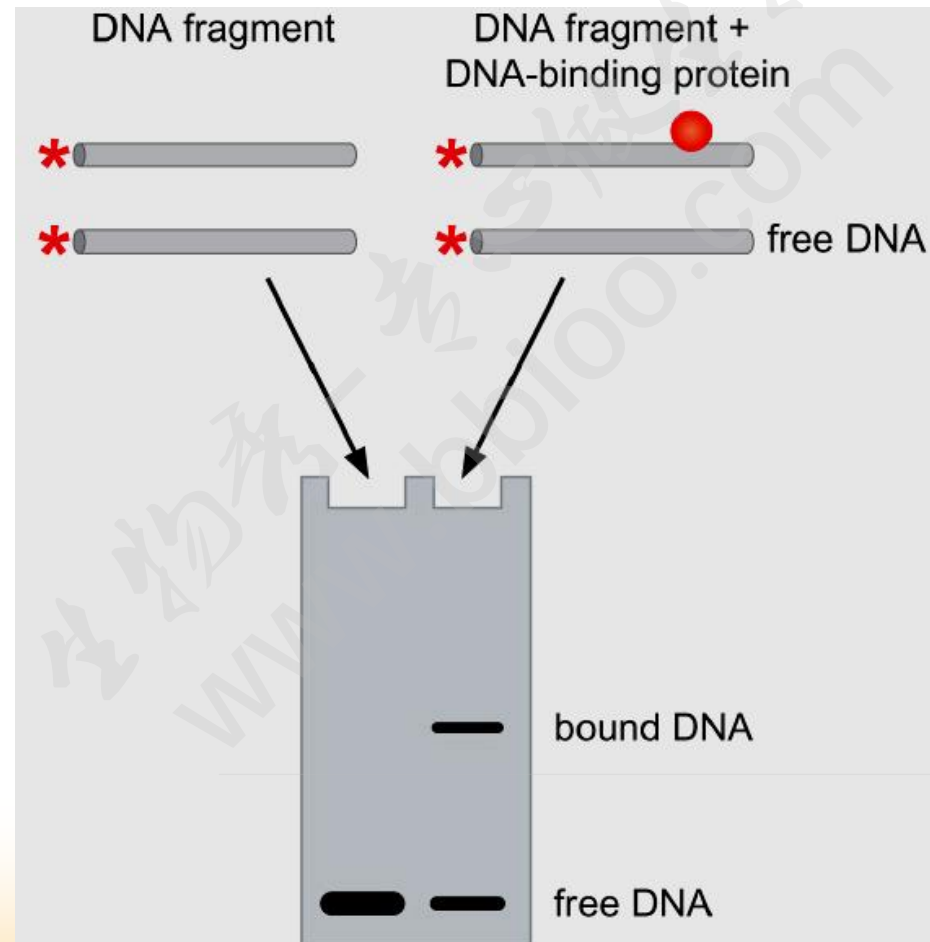
Looping



nucleosomal mobility



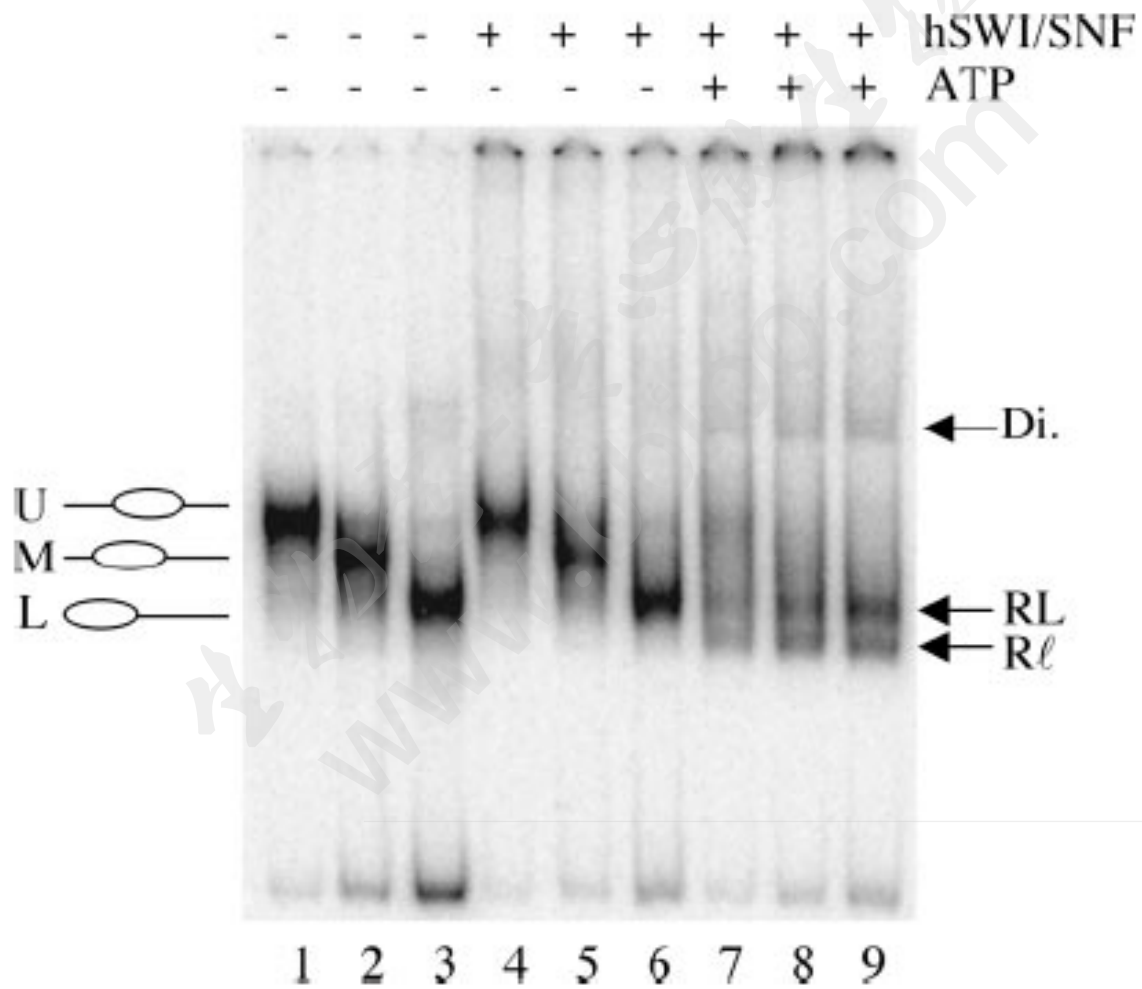
EMSA (electrophoretic mobility shift assay)



Copyright © 2004 Pearson Education, Inc., publishing as Benjamin Cummings



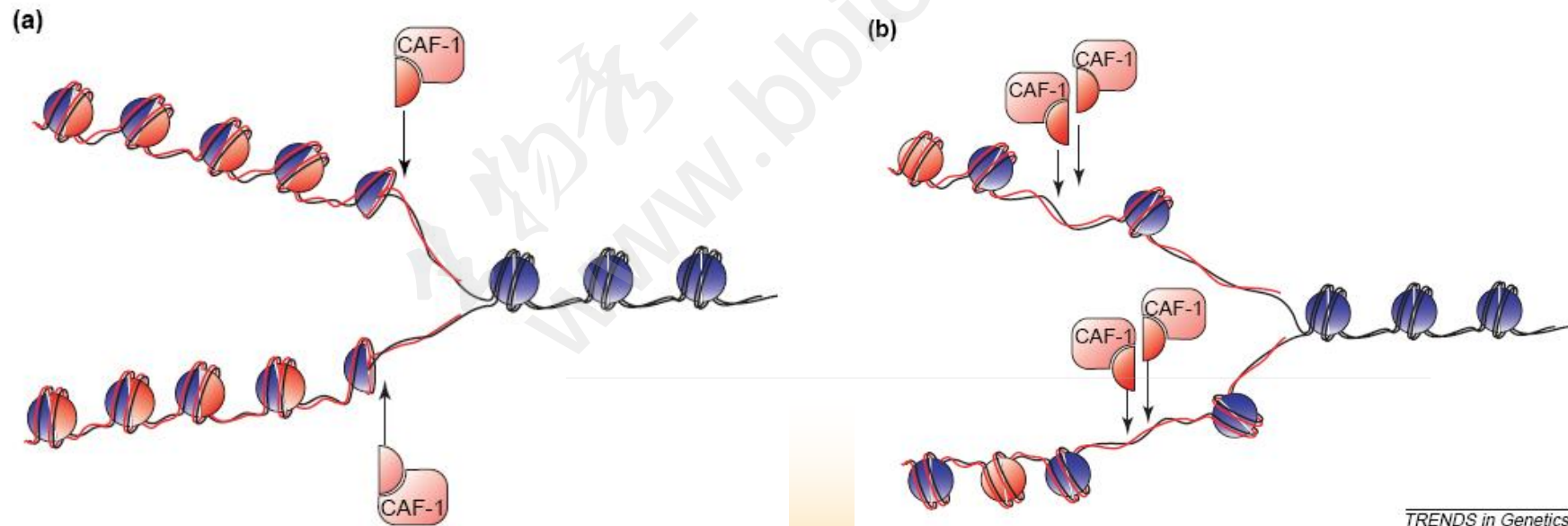
SWI/SNF: 核小体滑动



五、细胞周期中的染色质重塑



- ❑ A. DNA复制合成过程中，父代的组蛋白拆分成四聚体，通过CAF-1填补另外一半
- ❑ B. DNA复制合成过程中，父代的组蛋白随机的嵌入新合成的DNA中，新合成的组蛋白随后补充空位

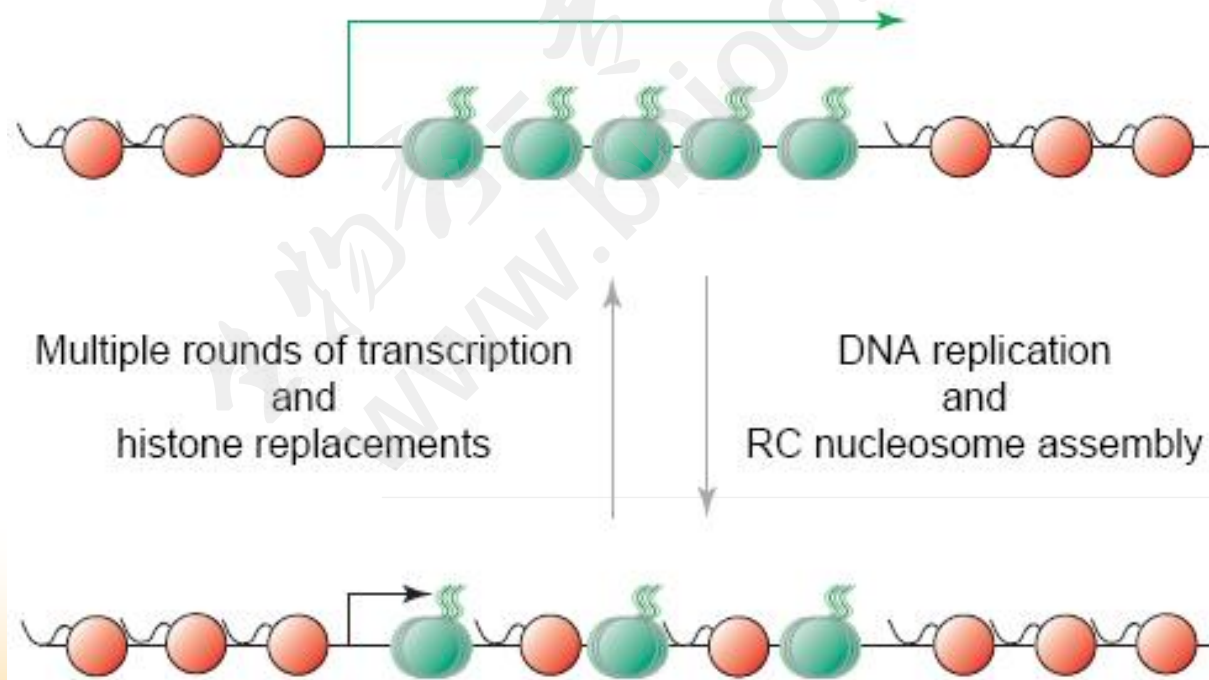


TRENDS in Genetics

染色质遗传



- 1. 活性的染色质，发生持续的由H3.3替代H3的过程；
- 2. 根据第二种模型，DNA复制后，填入新的H3，使得活化的染色质仅占原先的一半。



TRENDS in Genetics

Epigenetics, 2008-2009, Series 1, USC