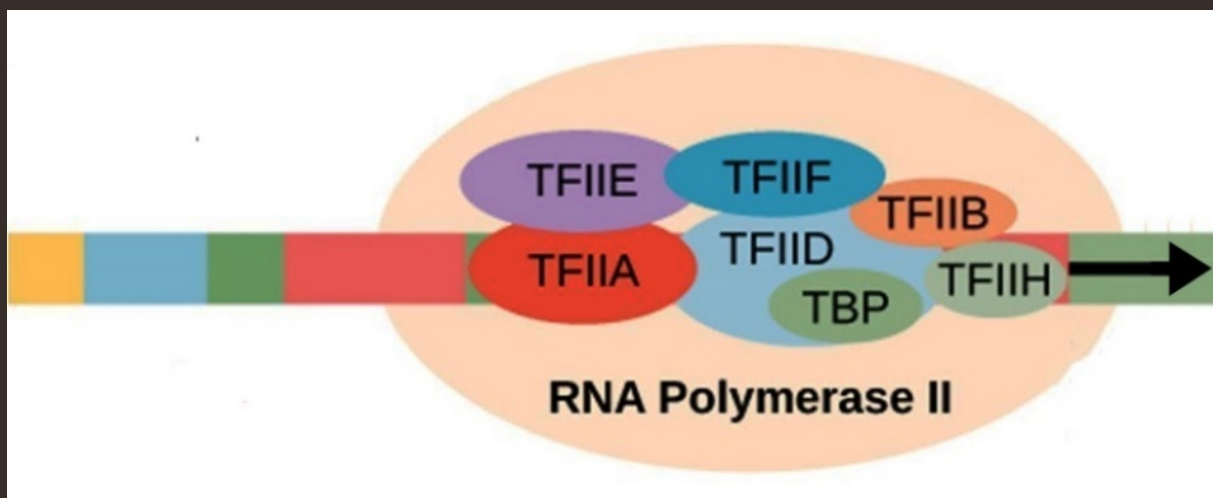


Μεταγραφικοί παράγοντες και μεταγραφικός έλεγχος σε ευκαρυωτικά κύτταρα

**Πώς οι ευκαρυωτικοί οργανισμοί έγιναν τόσο πιο περίπλοκοι από τους
προκαρυωτικούς, χωρίς πολλά περισσότερα γονίδια;
Η απάντηση βρίσκεται στους παράγοντες μεταγραφής.**



Οι σύνθετοι οργανισμοί έχουν περισσότερα γονίδια από τους απλούστερους οργανισμούς; Τώρα που οι ερευνητές μπορούν να αλληλουχήσουν ολόκληρα γονιδιώματα και το έχουν κάνει για αρκετούς οργανισμούς, γνωρίζουν ότι πολλά σπονδυλωτά έχουν τα διπλάσια γονίδια από τα ασπόνδυλα και ότι πολλά από τα γονίδια αυτά είναι αποτέλεσμα διπλασιασμού υπαρχόντων γονιδίων και όχι δημιουργίας νέων. Αλλά αν δεν υπάρχουν τόσα πολλά νέα γονίδια, τι ευθύνεται για την απίστευτη ποικιλομορφία στα φυτικά και ζωικά είδη;

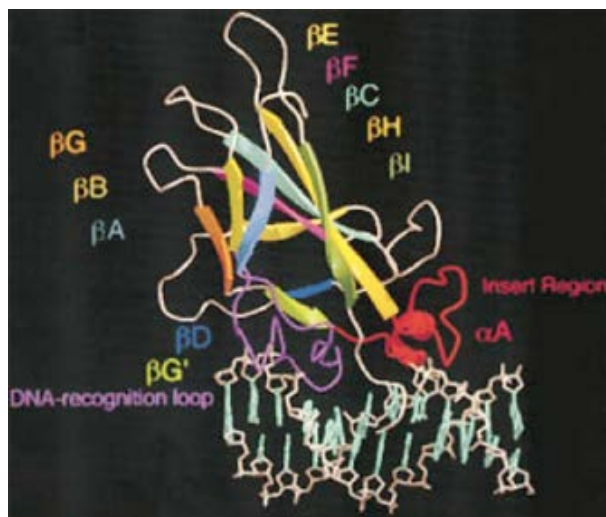
Η απλή απάντηση σε αυτό το ερώτημα είναι ότι οι ευκαρυώτες έχουν αναπτύξει έναν πιο περίπλοκο τρόπο ελέγχου της έκφρασης των υπαρχόντων γονιδίων τους σε σχέση με τους προκαρυωτικούς. Αυτό το σύστημα ελέγχου έκφρασης βασίζεται σε μια ομάδα πρωτεϊνών γνωστών ως μεταγραφικοί παράγοντες (TF) και επιτρέπει στους ευκαρυώτες να αλλάζουν τους κυτταρικούς τύπους και τα μοτίβα ανάπτυξής τους με διάφορους τρόπους. Οι TF δεν είναι αποκλειστικά υπεύθυνοι για τη γονιδιακή ρύθμιση. Οι ευκαρυώτες βασίζονται επίσης στην αλληλεπίδραση των κυττάρων των κυττάρων μεταξύ τους αλλά και με το περιβάλλον, στο μάτισμα RNA, στους μηχανισμούς ελέγχου του siRNA και στις τροποποιήσεις της χρωματίνης. Ωστόσο, οι TF που συνδέονται με τις αλληλουχίες DNA του ρυθμιστή cis είναι υπεύθυνες είτε θετικά είτε αρνητικά στη μεταγραφή συγκεκριμένων γονιδίων, καθορίζοντας ουσιαστικά εάν ένα συγκεκριμένο γονίδιο θα «ενεργοποιηθεί» ή «απενεργοποιηθεί» σε έναν οργανισμό.

Οι μεταγραφικοί παράγοντες αναγνωρίζουν συγκεκριμένες αλληλουχίες DNA

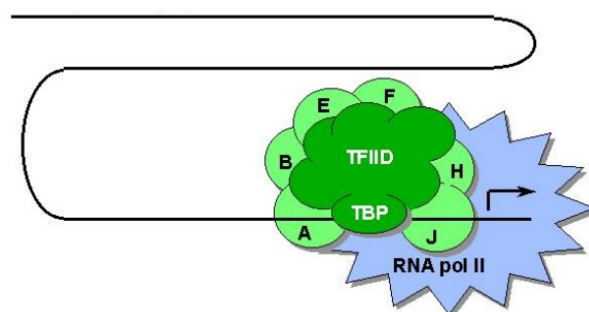
Μεγάλο μέρος της πολυπλοκότητας στη διαφοροποίηση σε ζωικά και φυτικά κύτταρα μπορεί να αποδοθεί στην εξέλιξη περίπλοκων συστημάτων που αποτελούνται από σύντομες (6 έως 8 ζεύγη βάσεων) ρυθμιστικές αλληλουχίες DNA ή μοτίβα cis, καθώς και από τα TF που συνδέονται με τα μοτίβα. αλληλεπιδρούν μεταξύ τους για να σχηματίσουν σύμπλοκα και στρατολογούν την RNA πολυμεράση II (Levine & Tjian, 2003). Τα περισσότερα ευκαρυωτικά γονίδια έχουν υποκινητές που αποτελούνται από το πλαίσιο TATA κοντά στο 5' άκρο του γονιδίου και, πιο μακριά, αρκετά μοτίβα που αναγνωρίζονται από συγκεκριμένους μεταγραφικούς παράγοντες. Επιπλέον, πολλά γονίδια έχουν μία ή περισσότερες άλλες κοντινές αλληλουχίες που ονομάζονται ενισχυτές. Οι ενισχυτές επηρεάζουν τη μεταγραφή. Αυτές οι αλληλουχίες εμφανίζονται ανάντη, κατάντη ή εντός εσωνίων και συνεχίζουν να λειτουργούν είτε στον κανονικό προσανατολισμό είτε προς τα πίσω στο γονιδίωμα. Στη ζύμη, δεν είναι γνωστοί ενισχυτές. Αντίθετα, υπάρχουν μόνο ανοδικές ακολουθίες ενεργοποιητών (UAS). Οι ενισχυτές μπορούν να βρεθούν χιλιάδες ζεύγη βάσεων μακριά από έναν υποκινητή, ενώ οι UAS βρίσκονται γενικά μερικές εκατοντάδες ζεύγη βάσεων ανάντη. Τυπικοί υποκινητές της RNA πολυμεράσης II μπορούν να επηρεαστούν από πολλούς ενισχυτές και από πολλαπλούς παράγοντες που συνδέονται με τις αλληλουχίες υποκινητή και ενισχυτή.

Ο τρόπος δράσης των TF είναι να αναγνωρίζουν και να δεσμεύονται σε ένα τμήμα DNA στην περιοχή του υποκινητή και/ή ενισχυτή. Συχνά, μια αλλαγή στη διαμόρφωση, ή η τρισδιάστατη δομή ενός TF, θα συνοδεύει τη δέσμευση του DNA. Για παράδειγμα, οι δύο βρόχοι στο NFATC1 που αλληλεπιδρούν με το DNA βρίσκονται σε διαφορετικές διαμορφώσεις, ανάλογα με το αν το NFATC1 είναι συμπλεγμένο με DNA ή όχι (Εικόνα 1). Επιπλέον, η δομή

διαφορετικών οικογενειών TF, που περιγράφεται παρακάτω σε αυτό το άρθρο, οδηγεί σε συγκεκριμένες περιοχές σε αυτά τα πρωτεϊνικά σύμπλοκα που αλληλεπιδρούν με το μοτίβο αναγνώρισης DNA. Το μοτίβο αναγνώρισης έχει συνήθως μήκος μόνο περίπου 6 έως 10 ζεύγη βάσεων.



Εικόνα 1: Δομή διαλύματος του συμπλέγματος πυρήνα NFATC1-DNA. Τοπολογική αναπαράσταση στοιχείων δευτερογενούς δομής στο σύμπλεγμα μεταξύ του μεταγραφικού παράγοντα NFATC1 και της αλληλουχίας δέσμευσης 12 ζευγών βάσεων στο DNA.



Οι μεταγραφικοί παράγοντες ασκούν συνδυαστικό έλεγχο

Πολλοί TF είναι γνωστό ότι διευκολύνουν τη μεταγραφή σε εκατοντάδες διαφορετικούς υποκινητές, ενώ μερικοί είναι ενεργοί μόνο σε λίγους επιλεγμένους. Εργαστηριακές τεχνικές όπως η ανοσοκαθίζηση χρωματίνης (ChIP) και οι μικροσυστοιχίες DNA χρησιμοποιούνται συνήθως για τη μελέτη των μοτίβων DNA-στόχων που αναγνωρίζονται από μεμονωμένους TF (Iyer et al., 2001).

Η πολυπλοκότητα και οι λεπτές διαβαθμίσεις της έκφρασης του DNA στους ευκαρυώτες προκύπτουν από την περίπλοκη ανάγνωση του συνδυασμού των σημάτων χρωματίνης και TF, αντί του μεμονωμένου σήματος TF. Έτσι, ο μεταγραφικός έλεγχος εξαρτάται από τις αλληλεπιδράσεις όλων των TF και από το εάν προσελκύουν την RNA πολυμεράση ή την εμποδίζουν να ξεκινήσει τη μεταγραφή. Μπορούν να συσσωρευτούν πολλαπλά TF, δημιουργώντας ένα όγκο στο μέγεθος ενός ριβοσώματος. Αφού συνδεθούν μεταξύ τους, οι αλλαγές στις λειτουργικές περιοχές ενός TF ή/και των

ομοιοπολικών αλληλεπιδράσεων με άλλους παράγοντες μπορούν να ενεργοποιήσουν ή να απενεργοποιήσουν τη μεταγραφή, ανάλογα με το εάν επιτρέπουν ή απαγορεύουν τη στρατολόγηση της RNA πολυμεράσης.

Ένας τυπικός ενισχυτής μπορεί να έχει μήκος έως και 500 ζεύγη βάσεων και να περιέχει πολλαπλές θέσεις δέσμευσης για τουλάχιστον δύο ή τρεις διαφορετικούς TF (Levine & Tjian, 2003). Δύο TF που συνδέονται σε θέσεις κοντά ο ένας στον άλλο στον κλώνο DNA μπορούν να συνδυαστούν για να σχηματίσουν ένα διμερές και να κάμψουν το DNA που πιστεύεται ότι είναι μέρος της διαδικασίας ενεργοποίησης. Η δομή της χρωματίνης επιτρέπει στους ενεργοποιητές να συσχετίζονται μεταξύ τους, ακόμη και όταν είναι συνδεδεμένοι με αλληλουχίες DNA με πολλές εκατοντάδες ζεύγη βάσεων μεταξύ τους. Ορισμένοι TF πιστεύεται ότι δρουν ως στοιχεία πρόσδεσης μεταξύ απομακρυσμένων ενισχυτών και υποκινητών σχηματίζοντας συνδέσεις με άλλες πρωτεΐνες.

Η εξέλιξη των οικογενειών του μεταγραφικού παράγοντα

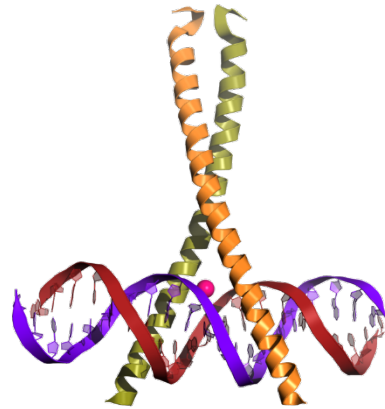
Οι ανώτεροι οργανισμοί έχουν μεγάλο αριθμό διαφορετικών οικογενειών TF που ορίζονται από την αλληλουχία των περιοχών δέσμευσης του DNA τους. Εξελικτικές μελέτες έχουν δείξει ότι αν και το μοτίβο δέσμευσης DNA διατηρείται σε μεγάλο βαθμό μεταξύ των φυτών και των ζώων, οι υπόλοιπες πρωτεϊνικές αλληλουχίες αυτών των οργανισμών είναι συχνά πολύ διαφορετικές. Επιπλέον, μια συγκεκριμένη οικογένεια TF μπορεί να έχει διαφορετικούς ρόλους στα φυτά από ότι στα ζώα, και μερικά νέα TF έχουν εξελιχθεί σε κάθε βασίλειο μετά την απόκλιση τους.

Σε πολλά ζώα, συμπεριλαμβανομένων των ανθρώπων, μια εξέχουσα ομάδα γονιδίων που εμπλέκονται στην κυτταρική ανάπτυξη,

συμπεριλαμβανομένων πολλών που κωδικοποιούν TF, περιέχουν μια αλληλουχία 180 ζευγών βάσεων που ονομάζεται homeobox. Το homeobox κωδικοποιεί ένα τμήμα πρωτεΐνης 60 αμινοξέων που ονομάζεται homeodomain, το οποίο αναγνωρίζει και δεσμεύεται σε υποκινητές στο DNA των γονιδίων-στόχων του. Ο πλήρης έλεγχος της μεταγραφής, και μερικές φορές η δέσμευση, εξαρτάται από τις αλληλεπιδράσεις μεταξύ των TF, επομένως η ενεργοποίηση εξαρτάται συχνά από την παρουσία άλλου TF. Ένα παρόμοιο σύστημα γονιδιακής αναγνώρισης βρίσκεται στα φυτά, όπου η περιοχή δέσμευσης DNA ονομάζεται κουτί MADS.

Τα TF έχουν συχνά ορισμένα συγκεκριμένα μοτίβα δέσμευσης DNA, ένα κοινό είναι η βασική δομή έλικας-βρόχου-έλικας (bHLH) που αναγνωρίζει μια συγκεκριμένη αλληλουχία DNA και κάθεται στο DNA σαν βαγόνι τρένου σε τροχιά. Ένα τέτοιο παράδειγμα είναι το TF MyoD (προσδιορισμός μυοβλαστών). Η έκφραση του γονιδίου MyoD έχει ως αποτέλεσμα την παραγωγή της πρωτεΐνης MyoD, η οποία συνδέεται με τους υποκινητές των γονιδίων που καθορίζουν τους μυς, προκαλώντας τη διαφοροποίηση των μυϊκών πρόδρομων κυττάρων (μυοβλάστες) σε μυϊκές ίνες. Το MyoD συνδέεται επίσης με τον δικό του υποκινητή, διατηρώντας έτσι τα δικά του επίπεδα στα διαφοροποιημένα μυϊκά κύτταρα και στους απογόνους τους.

Εκτός από το bHLH, υπάρχουν μερικά άλλα κοινά δομικά μοτίβα για την αναγνώριση και τη σύνδεση του DNA, και αυτά βρίσκονται στις περισσότερες ρυθμιστικές πρωτεΐνες. Αυτά είναι το helix-turn-helix (HTH), ο ψευδάργυρος και το φερμουάρ λευκίνης.



Συμπέρασμα

Τα κύτταρα των ανώτερων οργανισμών παρουσιάζουν έναν απίστευτο αριθμό γενετικών αποκρίσεων στο περιβάλλον τους. Αυτό είναι σε μεγάλο βαθμό το αποτέλεσμα των TF που διέπουν τον τρόπο με τον οποίο τα γονίδια μεταγράφονται και στρατολογείται η RNA πολυμεράση II. Μέσω αυτών των μηχανισμών, οι TF ελέγχουν σημαντικές πτυχές της ανάπτυξης του οργανισμού. Επιπλέον, δουλεύοντας σε συνδυασμό με τη χρωματίνη, τα σήματα TF μπορούν να ασκήσουν ένα λεπτότερο επίπεδο ελέγχου στο DNA επιτρέποντας διαβαθμίσεις της έκφρασης. Οι οικογένειες TF αυξάνουν περαιτέρω το επίπεδο της γενετικής πολυπλοκότητας στους ευκαρυώτες και πολλοί TF εντός της ίδιας οικογένειας συχνά συνεργάζονται για να επηρεάσουν τη μεταγραφή ενός μόνο γονιδίου. Δεδομένης της λειτουργίας των TF, μαζί με άλλους μηχανισμούς ρύθμισης των ευκαρυωτικών γονιδίων, δεν προκαλεί έκπληξη το γεγονός ότι οι σύνθετοι οργανισμοί είναι ικανοί να κάνουν τόσα πολλά με τόσα λίγα γονίδια. Είναι αυτές οι διεργασίες, περισσότερες από τον αριθμό των γονιδίων, που χωρίζουν πολύπλοκους και απλούς οργανισμούς μεταξύ τους από γενετική άποψη.

