# Chromatin biến đổi trong buồng phản ứng phân tử

Chromatin, phức hợp DNA và protein trong nhân tế bào, có thể được sửa đổi bởi các phân tử ubiquitin. Phát hiện rằng sự sửa đổi này xảy ra trong buồng phản ứng phân tử được hình thành từ enzyme và protein giàn.

DNA được đóng gói xung quanh protein histone để tạo thành cấu trúc phân tử gọi là chromatin. Các histon thường được sửa đổi bằng cách gắn các phân tử nhỏ, để hướng dẫn hoạt động của gen và sự ổn định của bộ gen (1, 2). Ví dụ, sửa đổi ubiquitin trên histone H2B (được gọi là H2Bub) được liên kết với các miền biểu hiện gen hoạt động (3, 4). Nhưng làm thế nào những tên miền sửa đổi phát sinh còn chưa được hiểu rõ. Công việc trước đây đã chỉ ra một mô hình đơn giản để hình thành các miền H2Bub: một phức hợp enzyme cần thiết để thêm ubiquitin vào H2B được tuyển dụng khi enzyme xúc tác sao chép gen, RNA polymerase II, đi dọc theo nhiễm sắc. Viết trong Nature, Gallego et al. (5) cung cấp một mô hình thay thế, trong đó phức hợp enzyme tạo thành buồng phản ứng 'tách pha' giống như chất lỏng, bổ sung ubiquitin vào H2B, độc lập với RNA polymerase II.

Trong nấm men, việc gắn ubiquitin vào H2B (một quá trình gọi là ubiquitination – ubiquitin hóa) được thực hiện bởi các enzyme Bre1 và Rad6. Một protein thứ ba, Lge1, cũng được yêu cầu cho sự phổ biến của H2B trong nấm men; Lge1 liên kết vật lý với Bre1, nhưng vai trò phân tử của nó trong việc phổ biến hóa đã là một bí ẩn (6). Gallego và cộng sự. xem xét lại Lge1 vì thành phần axit amin của nó chỉ ra rằng nó có một vùng bị rối loạn nội tại (IDR) có chứa một chuỗi 'nhãn dán' tại đầu mối amino, được làm giàu trong dư lượng axit amin arginine, tyrosine và glycine. Các protein khác có chứa IDR đã được chứng minh là tương tác yếu và trải qua quá trình tách pha lỏng lỏng (LLPS) - một quá trình trong đó các protein tự liên kết thành các chất ngưng tụ hoặc giọt giống như chất lỏng, tương tự như các bào quan không màng (7). LLPS đang đạt được sự nổi bật như là một khái niệm có thể giải thích các khía cạnh chính của cấu trúc và chức năng chromatin (8 - 12).

Gallego và cộng sự. cho thấy, trong một phản ứng được thực hiện trong ống nghiệm, Lge1 trải qua LLPS để tạo thành ngưng tụ. Quá trình này được thúc đẩy bởi IDR của protein - đặc biệt, bởi dư lượng tyrosine trong khu vực nhãn dán. Các tác giả đã quan sát thấy một hiện tượng kỳ lạ khi họ thêm Bre1 vào ống nghiệm: Lge1 hoạt động như một giàn giáo xung quanh mà Bre1 tạo thành lớp vỏ, hạn chế sự phát triển của nước ngưng. Sự hiện diện của Bre1 cũng dẫn đến sự tích lũy thoáng qua của Rad6 trong vỏ, cùng với các chuỗi nhiễm sắc thể (đơn vị cấu trúc của chất nhiễm sắc bao gồm DNA cuộn quanh tám histones). Rad6 và các nhiễm sắc thể sau đó trải đều trên toàn phần ngưng tụ. Do đó, Lge1 và Bre1 tạo thành "ngưng tụ lõi-vỏ" hoạt động như các buồng phản ứng, thu giữ bộ máy phổ biến và chất nền của nó, H2B trong các nhiễm sắc thể.

Một trong những thách thức của việc nghiên cứu LLPS là thử nghiệm các ý tưởng được tạo ra trong ống nghiệm và thông qua mô hình hóa, trong các tế bào sống (13, 14). Điều này chủ yếu là do các protein có IDR không thể tuân theo các nghiên cứu về cấu trúc và các chất ngưng tụ có thể quá nhỏ và năng động để có thể dễ dàng hình dung trong điều kiện sinh lý. Sử dụng các phương pháp bổ sung trong ống nghiệm và trong các tế bào nấm men, Gallego và các đồng nghiệp đã cung cấp bằng chứng cho sự tồn tại của buồng phản ứng in vivo.

Đầu tiên, bằng cách phân tích sự lắng đọng protein trong chiết xuất tế bào, nhóm đã chỉ ra rằng Lge1 tạo thành một phức hợp lớn có thể thu được Bre1. Sau đó, họ đã gắn thẻ Lge1 và Bre1 bằng các đoạn protein huỳnh quang để hình dung sự tương tác giữa hai protein trong các tế bào bằng kính hiển vi. Các protein hình thành các cụm tập trung, phù hợp với LLPS. Cuối cùng, các tác giả đã cung cấp bằng chứng cho thấy cấu trúc vỏ lõi cốt lõi giúp tăng cường hiệu quả của quá trình phổ biến H2B trong ống nghiệm và trong các tế bào, nơi nó chủ yếu ảnh hưởng đến trình tự gen đang được phiên mã hoạt động. Công trình của họ cung cấp một mô hình thú vị để mô tả môi trường trong đó các nhiễm sắc thể được sửa đổi.

Nghiên cứu này có thể dạy chúng ta điều gì về các khái niệm cơ bản của tổ chức và quy định về chất nhiễm sắc? Ngưng tụ Lge1THER Bre1 không giống như ngưng tụ LLPS đã biết vì nó không chỉ liên quan đến cấu trúc phân tách pha, mà còn bao gồm vỏ protein hoạt động bằng enzyme. Thành phần protein của buồng phản ứng LLPS có thể điều chỉnh kích thước của chính nó và có thể kiểm soát tốc độ Bre1, Rad6 và nucleosome xâm nhập vào nước ngưng. Khi buồng phản ứng này thu được các mảng nucleosome, nó cũng có thể tạo điều kiện thuận lợi cho việc sửa đổi nhiều nucleosome liên tiếp, tạo ra các miền H2Bub.

Protein WAC là đối tác của Lge1 ở người. Đột biến trong WAC có liên quan đến rối loạn phát triển thần kinh (15, 16) và có băng chứng mới cho thấy sự thay đổi trong LLPS có liên quan đến các bệnh ở người (7). Gallego và các đồng nghiệp đã chỉ ra rằng WAC cũng có IDR và nó có thể thực hiện một phần vai trò của Lge1 trong men. Dữ liệu của họ chỉ ra rằng sự ngăn chặn vỏ lõi lõi bất thường có thể có vai trò trong bệnh tật.

Ý tưởng rằng protein có thể ngưng tụ trong buồng phản ứng đặt ra một số câu hỏi. Ví dụ, làm thế nào các ngưng tụ L1 của Brege ảnh hưởng đến các cơ chế khác của tổ chức và sửa đổi nhiễm sắc thể, và chúng được nhắm mục tiêu đến các khu vực của bộ gen trải qua quá trình sao chép hoạt động như thế nào? Có lẽ các nhiễm sắc thể trong cơ thể chính của một gen - có các kiểu đóng gói nhiễm sắc thể khác nhau và biến đổi nhiễm sắc thể từ các vùng nhiễm sắc thể khác - là chất nền được ưu tiên cho các chất ngưng tụ. Một khả năng khác là máy móc phiên mã thúc đẩy việc nhắm mục tiêu của các nhiễm sắc thể cơ thể gen này vào ngưng tụ vỏ lõi lõi; điều này là do RNA polymerase II có miền carboxy-terminal lặp đi lặp lại cũng có thể trải qua LLPS (17). Tương tự như vậy, các nhà nghiên cứu bây giờ sẽ hỏi liệu các buồng phản ứng có giải mã các mảng nucleosome để cho phép truy cập các enzyme biến đổi nhiễm sắc thể khác không phải là một phần của ngưng tụ hay không và liệu các buồng này có hòa tan sau khi nhiễm sắc thể được phổ biến hay không.

**Điều hòa phiên mã bước vào giai đoạn mới**

Một xem xét quan trọng khác là làm thế nào các đại phân tử khác có thể kết hợp với ngưng tụ Lge1 càng Bre1 trong môi trường đông đúc của hạt nhân. Sự phổ biến của H2B thúc đẩy hoạt động của các enzyme Dot1, Set1 và Set2, thêm các nhóm methyl vào histones (4, 18) - liệu cuộc trò chuyện chéo này cũng xảy ra trong một ngưng tụ? Điểm cuối N của Dot1 được dự đoán là IDR và có thể thúc đẩy sự phổ biến của H2B khi được thể hiện quá mức (19). Điều này tương thích với một mô hình trong đó Dot1 kết hợp với các ngưng tụ Lge1 càng Bre1 để phối hợp các tầng điều chỉnh

nucleosome. Ngoài ra, có lẽ Dot1 tạo thành một ngưng tụ riêng biệt. Trong kịch bản này, các mảng nucleosome có thể được đưa ra giữa các ngưng tụ liền kề hoặc các ngưng tụ có thể tương tác thông qua các sự kiện hợp hạch.

Ý tưởng về ngưng tụ phân tách pha không phải là mới. Các nhà khoa học đã nghiên cứu các thuộc tính phân tử của họ trong nhiều thập kỷ, nhưng dường như các cấu trúc này cung cấp một cơ chế điều chỉnh các quá trình bên trong các tế bào, đặc biệt là cho tổ chức chromatin. Điều này có thể phản ánh thực tế là nhiều phản ứng xảy ra trong nhân liên quan đến các protein bị rối loạn hoạt động kết hợp với các chuỗi axit nucleic tích điện, cung cấp môi trường tối ưu cho LLPS (20). Gallego và cộng sự. thêm vào nhóm công việc này và làm nổi bật thực tế là các mô hình tuyến tính đơn giản cho các phản ứng enzyme trên chromatin có lẽ là quá đơn giản hóa. Thay vào đó, các phản ứng xảy ra trong 3D, với các ngưng tụ phân lớp tạo thành các môi trường vi mô enzyme thúc đẩy và điều chỉnh các phản ứng, và điều đó có thể đồng thời mở ra chất nhiễm sắc (11) - tất cả trong môi trường của buồng phản ứng cục bộ.

Nick Gilbert & Fred van Leeuwen, 11 MARCH 2020.

Tài liệu tham khảo


1. Valencia, A. M. & Kadoch, C. Nature Cell Biol. 21, 152–161 (2019).

2. Soshnev, A. A., Josefowicz, S. Z. & Allis, C. D. Mol. Cell 62, 681–694 (2016).

3. Fuchs, G. & Oren, M. Biochim. Biophys. Acta 1839, 694–701 (2014).

4. Weake, V. M. & Workman, J. L. Mol. Cell 29, 653–663 (2008).

5. Gallego, L. D. et al. Nature https://doi.org/10.1038/s41586-020-2097-z (2020).

6. Hwang, W. W. et al. Mol. Cell 11, 261–266 (2003).

7. Alberti, S. & Dormann, D. Annu. Rev. Genet. 53, 171–194 (2019).

8. Strom, A. R. & Brangwynne, C. P. J. Cell Sci. 132, jcs235093 (2019).

9. Boehning, M. et al. Nature Struct. Mol. Biol. 25, 833–840 (2018).

10. Cho, W.-K. et al. Science 361, 412–415 (2018).

11. Gibson, B. A. et al. Cell 179, 470–484 (2019).

12. Banani, S. F., Lee, H. O., Hyman, A. A. & Rosen, M. K. Nature Rev. Mol. Cell Biol. 18, 285–298 (2017).

13. Alberti, S., Gladfelter, A. & Mittag, T. Cell 176, 419–434 (2019).

14. Feng, Z., Chen, X., Wu, X. & Zhang, M. J. Biol. Chem. 294, 14823–14835 (2019).

15. Zhang, F. & Yu, X. Mol. Cell 41, 384–397 (2011).

16. DeSanto, C. et al. J. Med. Genet. 52, 754–761 (2015).

17. Guo, Y. E. et al. Nature 572, 543–548 (2019).

18. Worden, E. J. & Wolberger, C. Curr. Opin. Struct. Biol. 59, 98–106 (2019).

19. van Welsem, T. et al. Nucleic Acids Res. 46, 11251–11261 (2018).

20. Aumiller, W. M. Jr & Keating, C. D. Nature Chem. 8, 129–137 (2016).