



دانشگاه گیلان
۱۳۵۲_۱۹۷۴

چاپ اول

نگرشی بر اپی ژنتیک

تألیف:

رناتو پارو اولی گروسنیکلاوس رافائلا سانتورو آنتون ووتز

ترجمه:

دکتر حسن حسنی کومله
دانشیار دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

مرکز نشر دانشگاه گیلان

نگرشی بر اپی ژنتیک

Introduction to Epigenetics

By:

Renato Paro Ueli Grossniklaus
Raffaella Santoro Anton Wutz

Translated by:

Hassan Hassani Kumleh, Ph. D

University of Guilan Press



تألیف: رناتو پارو، اولی گروسنیکلاوس، رافائلا سانتورو، آنتون ووتز
ترجمه: دکتر حسن حسنی کومله

واژه اپی ژنتیک برای اولین بار توسط کنراد وادینگتون در سال ۱۹۴۲ مطرح شد. اپی ژنتیک به مطالعه تغییرات در موجودات اطلاق می شود که بدون تغییر رمز ژنتیکی باعث تغییرات بیان ژن می شود؛ به عبارت دیگر، این حوزه از علوم، تغییرات فنوتیپی ارثی و غیرژنتیکی را بررسی می کند. رشد فیزیولوژیکی و رفتاری جانداران از جمله انسان یک رویداد پویا است که شامل برهم کنش بین ژن ها و محیط است. به عنوان مثال، دوره رشد مغز و اعصاب نوزاد در رحم بین هفته های چهارم تا دهم بارداری است. اگرچه مراحل اولیه رشد مغز تحت تأثیر عوامل ژنتیکی است، ولی نحوه شکل گیری اتصالات نورون ها در سیستم عصبی (کالکتوم) تا حد زیادی متأثر از عوامل محیطی است. این وضعیت، تنها به دوره بارداری مادر محدود نمی شود، بلکه تأثیر عوامل اپی ژنتیکی پس از تولد نیز ادامه خواهد داشت. اثرات مثبت یا منفی تغییرات سبک زندگی منجر به مکانیسم های اپی ژنتیکی می شود؛ این مکانیسم ها که اغلب با هم کار می کنند تغییراتی را ایجاد می کنند که بر تمام سیستم های موجود زنده تأثیر می گذارد.



ISBN: 978-600-153-337-2



نگرشی بر اپی ژنتیک

تألیف:

رناتو پارو

اولی گروسنیکلاوس

رافائلا سانتورو

آنتون ووتز

ترجمه:

دکتر حسن حسنی کومله

دانشیار دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

مرکز نشر دانشگاه گیلان

۱۴۰۴



دانشگاه گیلان
۱۳۵۳-۱۹۷۴

شابک: ۹۷۸-۶۰۰-۱۵۳-۳۳۷-۲

عنوان و نام پدیدآور	نگرشی بر اپی ژنتیک/ تالیف رناتو پارو ... [و دیگران]؛ ترجمه حسن حسنی کومله؛ ویراستار علمی محمدحسین رضادوست؛ ویراستار ادبی سیده محدثه میرجعفری شال.
مشخصات نشر	رشت: دانشگاه گیلان، انتشارات، ۱۴۰۴.
مشخصات ظاهری	ب، ۳۰۳ ص.: مصور (بخشی رنگی)، جدول (رنگی)، نمودار (بخشی رنگی).
شابک	978-600-153-337-2
وضعیت فهرست نویسی	فیپا
یادداشت	عنوان اصلی: Introduction to Epigenetics, 2021.
یادداشت	تالیف رناتو پارو، اولی گروسنیکلاوس، رافائلا سانتورو، آنتون ووتز.
یادداشت	واژه نامه.
یادداشت	کتابنامه.
یادداشت	نمایه.
موضوع	اپی ژنتیک Epigenetics کروماتین Chromatin سرطان - تحقیق Cancer -- Research
شناسه افزوده	پارو، رناتو
شناسه افزوده	Paro, Renato
شناسه افزوده	حسنی کومله، سیدحسن، ۱۳۴۳ -، مترجم
شناسه افزوده	رضادوست، محمدحسین، ۱۳۶۵ -، ویراستار
شناسه افزوده	دانشگاه گیلان. انتشارات
رده بندی کنگره	QH۴۵۰:
رده بندی دیویی	۵۷۲/۸۶۵:
شماره کتابشناسی ملی	۱۰۱۲۵۲۲۹:

مرکز نشر دانشگاه گیلان

عنوان کتاب	:	نگرشی بر اپی ژنتیک
مؤلفان	:	رناتو پارو، اولی گروسنیکلاوس، رافائلا سانتورو، آنتون ووتز
مترجم	:	دکتر حسن حسنی
ویراستار علمی	:	دکتر محمدحسین رضا دوست
ویراستار ادبی	:	سیده محدثه میرجعفری شال
نوبت چاپ	:	اول، ۱۴۰۴
ناشر	:	مرکز نشر دانشگاه گیلان
شمارگان	:	۱۰۰۰ جلد

* هرگونه چاپ و تکثیر صرفاً در اختیار مرکز نشر دانشگاه گیلان است.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
پیشگفتار.....	ج
پیشگفتار مترجم.....	خ
فصل اول: زیست‌شناسی کروماتین	
۱-۱- مقدمه: تنظیم اپی‌ژنتیک در سطح ژنوم.....	۲
۱-۱-۱- پیشینه: بیان ژن و کروماتین.....	۲
۱-۱-۲- کشف ساختار نوکلئوزومی ژنوم.....	۳
۲-۱- ساختار نوکلئوزوم.....	۴
۱-۲-۱- انواع هیستون.....	۵
۳-۱- تغییرات هیستون.....	۸
۱-۳-۱- سیستم نام‌گذاری تغییرات هیستون.....	۸
۲-۳-۱- تغییرات ترکیبی در هتروکروماتین پیرامون سانترومری.....	۹
۳-۳-۱- تغییرات هیستون با وضوح بالا.....	۱۱
۴-۳-۱- تغییرات ژنتیکی مرتبط با واحدهای رونویسی.....	۱۴
۵-۳-۱- مفهوم نویسندگان، خوانندگان و پاک‌کنندگان تغییرات هیستون.....	۱۵
۴-۱- تغییرات DNA.....	۱۷
۱-۴-۱- متیلاسیون سیتوزین DNA.....	۱۸
۲-۴-۱- هیدروکسی متیلاسیون سیتوزین DNA.....	۲۶
۳-۴-۱- برهم‌کنش تغییرات هیستون و DNA.....	۲۸
۵-۱- سازماندهی کروماتین و بخش بندی در هسته سلول.....	۲۹
۱-۵-۱- همانندسازی دمین‌های هتروکروماتین پیرامون سانترومری.....	۳۱
۲-۵-۱- ارتباط توپولوژیکی دمین‌ها.....	۳۲
۳-۵-۱- حفظ ساختاری کمپلکس‌های کروموزوم‌ها.....	۳۵
منابع.....	۳۷

فصل دوم: پویایی کروماتین

- ۱-۲- فعالیت‌های هسته‌ای اساسی ۴۰
- ۲-۲- اتصال نوکلئوزوم‌ها به توالی DNA ۴۲
- ۳-۲- بازسازی نوکلئوزوم ۴۵
- ۱-۳-۲- الگوی برای رونویسی ۴۵
- ۲-۳-۲- کمپلکس‌های بازسازی کروماتین ۵۰
- ۴-۲- سرهم‌بندی نوکلئوزوم ۵۷
- ۱-۴-۲- انواع هیستون و چاپرون‌های هیستون ۵۷
- ۲-۴-۲- چنگال همانندسازی: همچنان معمای اصلی در اپی‌ژنتیک ۵۸
- منابع ۶۳

فصل سوم: حافظه سلولی

- ۱-۳- حفظ کردن سرنوشت سلولی ۶۶
- ۲-۳- سیستم گروه تری‌توراکس / گروه پلی‌کومب که حافظه سلولی را حفظ می‌کنند ۶۸
- ۳-۳- ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد مولکولی پروتئین‌های گروه پلی‌کومب / گروه تری‌توراکس ۷۰
- ۴-۳- هدف‌گیری و انتشار دمین‌های کروماتین کنترل شده با گروه تری‌توراکس / گروه پلی‌کومب ۷۴
- ۵-۳- تغییر جهت دادن حافظه و نقش RNA های غیررمزکننده ۸۱
- ۶-۳- ازدست‌دادن حافظه ۸۶
- منابع ۹۰

فصل چهارم: سیستم‌های جبران دُز

- ۱-۴- مقدمه : تکامل جبران دُز در گستره کروموزوم ۹۴
- ۱-۱-۴- پیامدهای تفاوت دُز ژن ناشی از سایش کروموزوم جنسی ۹۶
- ۲-۴- کمپلکس جبران دُز مگس میوه (مگس سرکه معمولی) ۹۹
- ۳-۴- غیرفعال‌سازی کروموزوم X در پستانداران ۱۰۵

- ۱-۳-۴- مکانیزم جبران دُز در پستانداران ۱۰۶
- ۲-۳-۴- تنظیم غیرفعال سازی کروموزوم X در پستانداران مختلف ۱۱۵
- ۴-۴- جبران دُز کروموزوم X در سی الگنس ۱۱۹
- منابع ۱۲۳

فصل پنجم: نشانه گذاری کردن ژنومی

- ۱-۵- کشف غیرهم ارزی ژنوم های پدر و مادری ۱۲۶
- ۱-۱-۵- نشانه گذاری در سطح ژنومی در حشرات ۱۲۶
- ۲-۱-۵- کشف نشانه گذاری ژنومی در یک جایگاه منفرد در ذرت ۱۲۸
- ۳-۱-۵- نشان دادن غیرهم ارزی ژنوم های والدینی در پستانداران ۱۳۱
- ۲-۵- ویژگی های ژن های نشانه گذاری شده در پستانداران ۱۳۳
- ۱-۲-۵- ویژگی های مولکولی خوشه های ژن نشانه گذاری شده ۱۳۴
- ۲-۲-۵- مکانیسم های مولکولی که منجر به بیان نشانه گذاری شده می شوند ۱۳۵
- ۳-۲-۵- چرخه حیات نشانه گذاری ژنومی ۱۳۸
- ۳-۵- نشانه گذاری ژنومی و بیماری انسان ۱۴۱
- ۴-۵- نشانه گذاری ژنومی در گیاهان گلدار ۱۴۴
- ۱-۴-۵- نشانه گذاری ژنومی عمدتاً در اندوسپرم اتفاق می افتد اما در جنین نیز وجود دارد ... ۱۴۶
- ۲-۴-۵- مکانیسم های اساسی نشانه گذاری، شباهت بین پستانداران و گیاهان را نشان می دهد ۱۴۸
- ۵-۵- تکامل نشانه گذاری ژنومی ۱۵۲
- منابع ۱۵۶

فصل ششم: مکانیزم های خاموشی ژن مبتنی بر RNA

- ۱-۶- رفتار غیرمعمول تراریخته ها منجر به کشف مکانیسم های خاموشی جدید مبتنی بر RNA شد. ۱۶۰
- ۱-۱-۶- اجزای حفاظت شده مکانیسم های خاموشی مبتنی بر RNA ۱۶۳
- ۲-۶- خاموشی ژن پس از رونویسی ۱۶۶

- ۱۶۶-۲-۶- زیست‌زایی و عملکرد میکرو RNA ها ۱۶۶
- ۱۶۹-۲-۶- دفاع ژنومی توسط خاموشی با وساطت RNA های کوتاه مداخله‌گر ۱۶۹
- ۱۷۱-۳-۶- خاموشی ژن در سطح رونویسی ۱۷۱
- ۱۷۵-۴-۶- پاراموتاسیون ۱۷۵
- ۱۷۷-۴-۶- عناصر تنظیمی سیس کنترل‌کننده پاراموتاسیون و عوامل ترانس-اکتینگ، پاراموتاسیون را به متیلاسیون DNA وابسته به RNA پیوند می‌دهند ۱۷۷
- ۱۸۱- منابع ۱۸۱

فصل هفتم: باززایی و برنامه‌ریزی مجدد

- ۱۸۶-۱-۷- انواع پدیده‌های باززاینده ۱۸۶
- ۱۸۷-۱-۷- باززایی از بلاستما ۱۸۷
- ۱۸۹-۲-۱-۷- تغییر توان با ترا تمایز ۱۸۹
- ۱۹۰-۳-۱-۷- پیام‌دهی در بلاستما ۱۹۰
- ۱۹۳-۲-۷- سلول‌های بنیادی در بزرگسال ۱۹۳
- ۱۹۵-۳-۷- منابع سلول‌های بنیادی پرتوان ۱۹۵
- ۱۹۹-۴-۷- پویایی کروماتین طی برنامه‌ریزی مجدد ۱۹۹
- ۲۰۲-۵-۷- درمان‌های باززاینده ۲۰۲
- ۲۰۶- منابع ۲۰۶

فصل هشتم: اپی‌ژنتیک و سرطان

- ۲۱۰-۱-۸- اپی‌ژنتیک و سرطان ۲۱۰
- ۲۱۱-۲-۸- متیلاسیون DNA و سرطان ۲۱۱
- ۲۱۱-۱-۲-۸- هایپرمتیلاسیون DNA در سرطان ۲۱۱
- ۲۱۳-۲-۲-۸- هایپو متیلاسیون DNA در سرطان ۲۱۳
- ۲۱۴-۳-۲-۸- از دست دادن نشانه‌گذاری از طریق تغییرات متیلاسیون DNA ۲۱۴
- ۲۱۷-۴-۲-۸- موتاسیون‌ها در ماشین متیلاسیون DNA در سرطان‌ها ۲۱۷
- ۲۱۷-۱-۴-۲-۸- موتاسیون‌های DNA متیل‌ترانسفراز 3a از نو ۲۱۷

- ۸-۲-۴-۲- موتاسیون های جابه جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲..... ۲۱۹
- ۸-۲-۵- مهارکننده های اپی ژنتیک DNA متیل ترانسفرازها در درمان سرطان..... ۲۲۱
- ۸-۳-۳- پروتئین های گروه پلی کومب و سرطان..... ۲۲۴
- ۸-۳-۱- تغییرات فعالیت گروه پلی کومب در سرطان..... ۲۲۴
- ۸-۳-۲- موتاسیون های مؤثر بر لیزین ۲۷ هیستون H3 در سرطان های متعدد رخ می دهد ۲۲۷
- ۸-۳-۳- مهارکننده های تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ در درمان سرطان..... ۲۳۰
- ۸-۴-۴- استیل اسیون و داستیل اسیون هیستون در سرطان ها..... ۲۳۱
- ۸-۴-۱- تغییرات هیستون استیل ترانسفرازها در سرطان..... ۲۳۲
- ۸-۴-۲- پروتئین های شناسایی استیل- لیزین و سرطان..... ۲۳۳
- ۸-۴-۳- تغییرات هیستون داستیل اسیون در سرطان..... ۲۳۵
- ۸-۴-۴- مهارکننده های هیستون استیل اسیون و هیستون داستیل اسیون در درمان سرطان..... ۲۳۶
- ۸-۵-۵- عوامل بازسازی کروماتین و سرطان..... ۲۳۷
- ۸-۵-۱- کمپلکس های سوئیچینگ معیوب/ غیرتخمیری ساکارز و سرطان..... ۲۳۸
- ۸-۵-۲- کمپلکس های تقلید-سوئیچ و سرطان..... ۲۴۰
- ۸-۵-۳- کمپلکس بازسازی نوکلئوزومی و کمپلکس هیستون داستیل اسیون و سرطان..... ۲۴۱
- ۸-۵-۴- کمپلکس اینوزیتول ۸^۰ و سرطان..... ۲۴۲
- منابع..... ۲۴۵

فصل نهم: اپی ژنتیک و متابولیسم

- ۹-۱-۱- اپی ژنتیک و متابولیسم..... ۲۵۰
- ۹-۲-۲- استیل کوآنزیم A..... ۲۵۰
- ۹-۲-۱- بیوسنتز استیل کوآ..... ۲۵۱
- ۹-۲-۲- استیل کوآ به عنوان کوفاکتور هیستون استیل ترانسفرازها..... ۲۵۴
- ۹-۳-۳- نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید..... ۲۵۶
- ۹-۳-۱- بیوسنتز NAD..... ۲۵۷
- ۹-۳-۲- NAD به عنوان کوفاکتور سیرتوئین ها و پلی (ADP-ریبوز) پلیمرها..... ۲۶۱

۲۶۱.....	۹-۳-۱-سیرتوئین ها
۲۶۳.....	۹-۳-۲-پلی (ADP-ریبوز) پلیمرازها
۲۶۵.....	۹-۴-S-آدنوزیل متیونین
۲۶۵.....	۹-۴-۱-بیوسنتز S-آدنوزیل متیونین
۲۶۸.....	۹-۴-۲-S-آدنوزیل متیونین به عنوان کوفاکتور DNA و هیستون متیل ترانسفرازها
۲۷۱.....	۹-۵-فلاوین آدنین دی نوکلئوتید
۲۷۱.....	۹-۵-۱-بیوسنتز FAD
۲۷۲.....	۹-۵-۲-FAD به عنوان کوفاکتور لیزین دمتیلاز ۱
۲۷۳.....	۹-۶- α -کتوگلو تارات
۲۷۴.....	۹-۶-۱-بیوسنتز α -کتوگلو تارات
و ۱۰-۱۱	۹-۶-۲- α -کتوگلو تارات به عنوان کوفاکتور DNA دمتیلازهای خانواده-جابه جایی
۲۷۶.....	هیستون دمتیلازهای خانواده Jumonji C
۲۸۱.....	منابع
۲۸۵.....	واژه نامه
۲۹۷.....	نمایه

پیشگفتار

DNA در یک سلول یوکاریوتی، حامل اولیه انتقال صفات به فرزندان است. با این حال، DNA ارتباط نزدیکی با تعدادی از عوامل کنترل کننده بیان اطلاعات ژنتیکی دارد. این همکاری که کروماتین نامیده می شود، نه تنها تأثیر زیادی بر نحوه بیان ژن ها دارد، بلکه لایه های بیشتری از اطلاعات را می تواند ایجاد کند تا بتواند به صورت موازی اطلاعات ژنتیکی را به ارث برساند. اپی ژنتیک فرایندهای پشت وراثت صفاتی را که نمی توان به تغییرات در توالی DNA نسبت داد، بررسی می کند.

چشم انداز اپی ژنتیک یک سلول با به خاطر سپردن تصمیمات تکوینی و با حفظ حافظه پایدار و قابل اعتماد در بسیاری از تقسیمات سلولی به سرنوشت و تنوع آن کمک می کند. ترکیب و ساختار کروماتین می تواند یک ژن یا حتی کل کروموزوم را علامت گذاری و خاموش کند، درحالی که ال آن یا کروماتید خواهر آن در همان هسته فعال باقی می ماند. این علائم کروماتین در صورت لزوم می تواند پاک شود و علائمی جدید برای سازگاری سلول با تغییر شرایط محیطی یا تکوینی ایجاد کند. اپی ژنتیک تلاش می کند تا بفهمد این علائم چیست، چگونه ایجاد می شود و در صورت لزوم معکوس می شوند و مهم تر از همه چگونه به نسل بعد به ارث می رسند. DNA به خودی خود با علامت گذاری بازها با یک پیام شیمیایی، به عنوان مثال اضافه کردن متیل به سیتوزین می تواند اطلاعات بیشتری فراتر از بستر ژنتیک ایجاد کند. قابل ذکر است متیل اضافه شده به سیتوزین دوباره بدون تغییر محتوای توالی می تواند برداشته شده و موجب تغییر مسیرهای اپی ژنتیک شود. DNA در یک آرایه منظم از نوکلئوزوم ها بسته بندی می شود. نوکلئوزوم ها متشکل از انواع هیستون ها هستند که از نظر شیمیایی در یک الگوی بسیار پیچیده می توانند دچار تغییر شوند. علائم هیستون نتیجه ماشین سلولی پیچیده ای است که امضاهای موضعی روی توالی DNA ای که بسته بندی می کنند، تولید می کند و به موجب آن یک حالت قابل انتقال از نظر اپی ژنتیکی ایجاد می کند. همچنین در این مورد با تاکید بر برگشت پذیری و انعطاف پذیری کنترل اپی ژنتیک، علائم می توانند حذف شود یا با علائم دیگر جایگزین شود. RNA تنظیمی به عنوان جزء سوم، نقش رو به افزایش و در عین حال کمتر درک شده در کنترل اپی ژنتیک ایفا کرده و ارتباط مهمی بین اطلاعات ژنتیکی و اپی ژنتیکی برقرار می کند.

تأثیر متقابل بین این سه بازیگر اصلی، لایه بندی بسیار پیچیده تری از اطلاعات قابل انتقالی که توالی بازها به تنهایی ارائه می دهند، تولید می کنند. برخلاف اطلاعات توالی DNA، برگشت پذیری و انعطاف پذیری علائم اپی ژنتیک ویژه تضمین می کند که اطلاعات ژنتیکی می تواند به شیوه بسیار وابسته به موقعیت تفسیر شود. به عنوان مثال، فرایند باززایی اندام و بافت نیازمند برنامه ریزی مجدد اساسی کنترل اپی ژنتیکی با تغییر و تطبیق هویت های سلولی برای وظایف ترمیم و همئوستازی

است. بیشتر آنزیم‌های تغییردهنده کروماتین از متابولیت‌ها به‌عنوان عامل کمکی استفاده می‌کنند که به‌طور کامل کنترل مکانیزم‌های اپی‌ژنتیک را به نیازهای فیزیولوژیکی در حال تغییر سلول مرتبط می‌کنند. در نهایت، اگر این مکانیزم‌ها به‌درستی حفظ نشوند، امضاهای اپی‌ژنتیک می‌تواند منجر به طیفی از اختلالات عملکردی از توسعه سرطان گرفته تا اختلالات عصبی شود. اپی‌ژنتیک نقش مکمل ژنتیک را ایفا می‌کند و بسیاری از جنبه‌های پزشکی، بیوتکنولوژی و زیست‌شناسی گیاهی را تحت تأثیر قرار دهد.

این کتاب برای خواندن همراه با سخنرانی اپی‌ژنتیک که نویسندگان در ETH زوریخ^۱ سوئیس ارائه کردند، منتشر شده است. فصل‌های اول، نگرشی بر زیست‌شناسی کروماتین با تمام اجزاء و فرایندهای سلولی ارائه می‌کند که جعبه‌ابزار مکانیزم‌های اپی‌ژنتیک را ایجاد می‌کند. در فصل‌های بعدی، پدیده‌های پیچیده اپی‌ژنتیک با تبیین ساختارها و اصول مکانیزم‌های مولکولی اساسی نشان داده می‌شوند. در پایان کتاب، در دو فصل به بررسی تأثیرات محیطی بر کنترل اپی‌ژنتیک و تنظیم نادرست اپی‌ژنتیکی در بیماری انسان می‌پردازد.

از نویسندگان کتاب به‌دلیل تلاش و تعهدشان برای تحقق این پشتیبانی آموزشی برای دانشجویان بسیار سپاسگزارم. همه ما از حمایت و شکیبایی قوی امری استرل و بیبوتی شارما در دفتر تحریریه اشپرینگر نیچر بسیار قدردانی می‌کنیم. از بسیاری از همکارانمان به‌دلیل ارجاع محدود آثار ذکرشده آنها که ناشی از محدودیت‌های فضایی بود، پوزش می‌خواهیم. امیدوارم این کتاب دانشجویان و خوانندگان را برانگیزد و علاقه و کنجکاوی آنها را برای زیست‌شناسی جذاب اپی‌ژنتیک بیشتر کند. در واقع بسیاری از پرسش‌ها و کاربردهای اساسی در اپی‌ژنتیک هست که باید کشف شوند و مکانیزم‌های آنها در آینده مشخص شوند. این دیدگاه، باعث می‌شود تحقیق در این رشته به‌صورت تلاشی ارزشمند و لذت بخش ادامه پیدا کند.

رناتو بارو

زوریخ - سوئیس

^۱. انستیتوی. فدرال. فناوری. زوریخ

پیشگفتار مترجم

کلمهٔ اپیژنتیک در زبان یونانی از پیشوند **اپی** به معنای بالا، آن سوی و **ژنزیس** (پیدایش) به معنای تولد، منشأ، آفرینش تشکیل شده است. واژهٔ اپیژنتیک برای اولین بار توسط کنراد وادینگتون در سال ۱۹۴۲ مطرح شد؛ در اپیژنتیک بررسی می‌شود که ژنوتیپ موجود زنده چگونه فنوتیپ را ایجاد می‌کند. اپیژنتیک به مطالعهٔ تغییرات در موجودات اطلاق می‌شود که بدون تغییر رمز ژنتیکی باعث تغییرات بیان ژن می‌شود؛ به عبارت دیگر، این حوزه از علوم، تغییرات فنوتیپی ارثی و غیرژنتیکی را بررسی می‌کند. اپیژنتیک می‌تواند توضیح دهد که چگونه جانداران با DNA یکسان، می‌توانند تغییرات فنوتیپی متفاوتی داشته باشند. این تغییرات که مستقیماً بر سلول و موجود زنده تأثیر می‌گذارد، تعیین می‌کند ژن‌ها کجا و چه زمانی بدون تغییر در توالی DNA فعال باشند. بافت‌ها و اندام‌های انسان و حیوان از سلول‌های زیادی تشکیل شده‌اند؛ اگرچه توالی DNA هر کدام از سلول‌ها یکسان هستند، ولی بیان ژن و در نتیجه پروتئین آن‌ها ممکن است متفاوت باشد. به عنوان مثال، بافت‌های اندام‌هایی مانند قلب، کبد و مغز که از نظر شکل و عملکرد متفاوت‌اند، دارای توالی DNA یکسان هستند، اما دلیل تمایز سلول‌های بافت‌ها و اندام‌های مختلف، اپیژنتیک است که باعث روشن و خاموش شدن برخی از ژن‌ها می‌شوند.

مکانیسم توارث تغییرات اپیژنتیک را نمی‌توان به‌طور کامل توضیح داد. اساس مولکولی تفاوت‌ها در تغییرات بیان ژن غیر ژنوتیپی ساده نبوده، بلکه ترکیبی است، به‌طوری‌که این وضعیت را می‌توان با رهبر ارکستری مقایسه کرد که تضمین می‌دهد سازهای مناسب در زمان مناسب نواخته شوند تا یک کنسرت خوب پدید آید. تغییرات اپیژنتیکی توسط متیلاسیون DNA، تغییرات ساختار کروماتین، اسیدهای ریبونوکلیک غیررمزکننده و تغییرات هیستون رخ می‌دهد. در بین مکانیسم‌های اپیژنتیک، دو مکانیسم وجود دارد که به‌طور مستقیم بیان ژن را کنترل می‌کند که عبارتند از: متیلاسیون DNA و تغییر هیستون. متیلاسیون DNA در کنترل سلولی نقش دارد، درحالی‌که تغییرات هیستون در فعالیت رونویسی و تغییرات در سطح ساختار کروماتین دخالت دارند. مکانیسم‌های اپیژنتیک که ساختار کروماتین را تغییر می‌دهند را می‌توان به چهار دسته تقسیم کرد: تغییرات هیستون، متیلاسیون DNA، بازسازی نوکلئوزوم و RNA های غیررمزکننده مانند LncRNAs و miRNAs.

رشد فیزیولوژیکی و رفتاری جانداران از جمله انسان یک رویداد پویا است که شامل برهم‌کنش بین ژن‌ها و محیط است. به عنوان مثال، دورهٔ رشد مغز و اعصاب نوزاد در رحم بین هفته‌های چهارم تا دهم بارداری است. اگرچه مراحل اولیهٔ رشد مغز تحت تأثیر عوامل ژنتیکی است، ولی نحوهٔ

شکل‌گیری کانکتوم سلول‌های عصبی تا حد زیادی متأثر از عوامل محیطی است. این وضعیت، تنها به دوره بارداری مادر محدود نمی‌شود، بلکه تأثیر عوامل اپی‌ژنتیکی پس از تولد نیز ادامه خواهد داشت. اثرات مثبت یا منفی تغییرات سبک زندگی منجر به مکانیسم‌های اپی‌ژنتیکی می‌شود؛ این مکانیسم‌ها که اغلب با هم کار می‌کنند تغییراتی را ایجاد می‌کنند که بر تمام سیستم‌های موجود زنده تأثیر می‌گذارد.

در حالی که تغییرات اپی‌ژنتیک برای رشد و سلامت طبیعی مورد نیاز است، اما می‌تواند مسئول برخی از بیماری‌ها نیز باشد. اختلال در سیستمی که به تغییرات اپی‌ژنتیکی کمک می‌کند می‌تواند باعث فعال شدن یا خاموش شدن غیرطبیعی ژن‌ها شود. چنین اختلالاتی می‌تواند با بیماری‌های مختلف از جمله سرطان، دیابت، سندرم‌های شامل ناپایداری‌های کروموزومی، عقب‌ماندگی ذهنی و... همراه باشد.

اگرچه تغییرات اپی‌ژنتیک کاملاً پایدار هستند، اما برگشت‌پذیر نیز هستند و می‌توانند بیان ژن اپی‌ژنتیک را با توجه به شرایط در حال تغییر، تنظیم کنند؛ به عبارت دیگر، بیان ژن را می‌توان با بهبوددهنده‌هایی مانند دارو و غیره کنترل کرد. این وضعیت باعث شده است که اپی‌ژنتیک در تعیین راهبردهای درمانی جدید در برابر بیماری‌ها مورد توجه قرار گیرد. سال‌هاست که عملکرد بسیاری از بیماری‌های ارثی و انواع سرطان در زمینه‌های پزشکی، زیست‌شناسی و ژنتیک به‌طور کامل شناخته نشده است. امروزه موارد زیادی وجود دارد که نشان می‌دهد تنها مطالعه ژنتیک موجود زنده کافی نیست، برای درک کامل‌تر پدیده‌ها می‌توان اتفاقات را فراتر از مرزهای ژنتیک (اپی‌ژنتیک) توضیح داد. کشف رخداد‌های اپی‌ژنتیک با پیشرفت تکنولوژی تا حد زیادی سرعت گرفته است و به‌ویژه با کشف اثرات آن‌ها بر انسان، ارتباط آن‌ها با بیماری‌ها مشخص شده است. در راستای تمامی این اطلاعات، می‌توان گفت که با علم اپی‌ژنتیک، به‌زودی حرفه جدید و معتبری مانند مهندسی اپی‌ژنتیک متولد خواهد شد و در آینده به مطالعات این رشته جوایز نوبل تعلق خواهد گرفت.

فصل‌های اول و دوم کتاب به زیست‌شناسی کروماتین، سازماندهی ژنوم در ساختار نوکلئوزومی می‌پردازد. آرایش نوکلئوزومی موقعیتی را فراهم می‌کند که اطلاعات موجود در توالی DNA برای تنظیم جنبه‌های مختلف کروموزوم‌ها، از جمله رونویسی، فرایندهای تکثیر و ترمیم DNA، نوترکیبی، عملکرد کینتوکور و عملکرد تلومر بتواند پایه‌ریزی شود. در فصل سوم، نحوه عملکرد تنظیم‌کننده‌های کروماتین برای حفظ حالت‌های بیان ژن افتراقی بررسی می‌شود. تنظیم‌کننده‌های کروماتین از نظر تکاملی بسیار حفاظت‌شده هستند و فرایندهای متنوعی مانند هویت سلول‌های بنیادی در تکوین پستانداران تا فرایند گل‌دادن در گیاهان را کنترل می‌کنند. در فصل چهارم، سیستم‌های جبران دُز و مکانیزم‌های مولکولی جبران دُز در کل کروموزوم X در مگس‌ها، کرم‌ها و پستانداران مطالعه شده

است. هریک از این گونه‌ها از استراتژی جبران دُر مشخصی با مکانیزم مولکولی متفاوت استفاده می‌کنند. در فصل پنجم در مورد یکی از پارادایم‌های تنظیم ژن اپی‌ژنتیکی به نام نشانه‌گذاری ژنومی، بحث شد. فصل ششم، علاوه بر حالت‌های اپی‌ژنتیک متیلاسیون DNA و تغییرات هیستون پس از ترجمه، RNAها نیز به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اپی‌ژنتیکی بررسی شده است. در فصل هفتم با استراتژی‌هایی برای ترمیم بافت و اندام آشنا خواهید شد که سلول‌های سوماتیک با تمایززدایی می‌توانند پتانسیل تکوینی خود را افزایش داده و شکل‌پذیری لازم برای جایگزینی بخش آسیب‌دیده را انجام دهند. در دو فصل پایانی کتاب به بررسی تأثیرات محیطی بر کنترل اپی‌ژنتیک و تنظیم نادرست اپی‌ژنتیکی در بیماری سرطان پرداخته می‌شود.

امیدوارم ترجمه کتاب حاضر فرصتی برای آشنایی بیشتر دانشجویان و پژوهشگران با اپی‌ژنتیک فراهم کند. تلاشم در ترجمه ضمن حفظ امانتداری، آرایه مطالب به زبان ساده و شیوا بوده و به احتمال زیاد، بدون اشکال نخواهد بود. مشتاقم خوانندگان محترم برای رفع خطاهای ترجمه با نگاه موشکافانه خود در اصلاح کتاب یاورم باشند تا در چاپ‌های بعدی اشکالات موجود برطرف شود. در پایان از داوران، ویراستاران، رئیس و کارکنان محترم انتشارات دانشگاه گیلان، صمیمانه سپاسگزارم.

فصل اول

زیست‌شناسی کروماتین

مطالبی که در این فصل یاد خواهید گرفت.

در این فصل نگرشی بر کروماتین ارائه می‌شود. ما در این فصل سازماندهی ژنوم را در ساختار نوکلئوزومی بررسی خواهیم کرد. DNA به دور یک مجموعه پروتئین‌های کروی به نام هیستون ۸ تایی متشکل از دایمرهای H2A, H2B, H3 و H4 پیچیده می‌شود. آرایش نوکلئوزومی موقعیتی را فراهم می‌کند که اطلاعات موجود در توالی DNA برای تنظیم جنبه‌های مختلف کروموزوم‌ها، از جمله رونویسی، فرایندهای تکثیر و ترمیم DNA، نوترکیبی، عملکرد کینتوکور و عملکرد تلومر بتواند پایه‌ریزی شود. تغییرات پس از ترجمه پروتئین‌های هیستون و تغییرات بازهای DNA شالوده تنظیم اپی ژنتیکی مبتنی بر کروماتین است. آنزیم‌هایی که تغییرات هیستون را کاتالیز می‌کنند، به عنوان نویسند در نظر می‌گیرند. از نظر مفهومی، پاک‌کن‌ها این تغییرات را حذف می‌کنند و خواننده‌ها پروتئین‌هایی هستند که به این تغییرات متصل شده و می‌توانند عملکردهای خاصی را انجام دهند. در مقیاس بزرگ‌تر، سازماندهی سه‌بعدی کروماتین در هسته نیز به تنظیم ژن کمک می‌کند. درحالی‌که کروموزوم‌ها هنگام میتوز متراکم می‌شوند و طی تقسیم سلول از هم جدا می‌شوند، آن‌ها حین اینترفاز، نواحی مجزایی به نام قلمروهای کروموزومی را اشغال می‌کنند. حلقه شدن یا تاخوردن DNA، عناصر تنظیم‌کننده از جمله تشدیدکننده‌ها را در نزدیکی پروموتورهای ژن قرار می‌دهد. تکنیک‌های اخیر، درک تماس‌های سه‌بعدی با وضوح بالا را تسهیل کرده است. نکته پایانی، کروماتین پویا است و تغییرات در استقرار هیستون، تغییرات هیستون و قابلیت دسترسی به DNA، به تنظیم اپی ژنتیک کمک می‌کند.

۱-۱- مقدمه: تنظیم اپی ژنتیک در سطح ژنوم

۱-۱-۱- پیشینه: بیان ژن و کروماتین

همه جانداران صفاتی را از والدین خود به ارث می‌برند که در توالی چهار باز اسیدهای نوکلئیک رمزگذاری شده است. همه یوکاریوت‌ها دارای ژنوم‌های مبتنی بر DNA هستند، DNA دارای دو رشته ضد موازی است که به صورت یک مارپیچ دوگانه راست گرد حول محوری مارپیچ، پیچ خورده است. اگرچه توالی بازهای نوکلئوتید و ساختار سه‌بعدی مارپیچ DNA به بیان صفات کمک می‌کند، ولی تصور می‌شود که توالی DNA تولید صفت را با بیان تنظیم‌شده ژن‌ها، تسهیل می‌کند. تنها عملکرد ژنوم بیان ژن نیست، بلکه همانندسازی و وراثت قابل اعتماد ژنوم به سلول‌های سوماتیک نسل بعد و تغییرات تکاملی ژنوم از اعمال اساسی ماده وراثتی هستند. نکته مهم این است که یک ژنوم برای تولید یک جاندار کافی نیست؛ تولید موجود زنده به یک خواننده مناسب نیاز دارد که توسط یک سلول یا در مورد جانداران عالی‌تر، یک اووسیت یا تخمک بارور شده می‌تواند ارایه شود که

الزاما باید از ژنوم همان گونه باشد. خواننده فرایندهای مولکولی را در هسته انجام می‌دهد که منجر به تولید مولکول‌های حیاتی نظیر اسیدهای ریبونوکلئیک و سایر مولکول‌های فعال بیوسنتزی می‌شود. در نتیجه مولکول‌های مورد نیاز سلول تأمین می‌شود و بافت موجود زنده حفظ می‌شود. از طریق بازخورد عوامل رونویسی رمزنگاری شده در ژنوم و طبق معمول اتصال آن‌ها به توالی ویژه DNA مدارهای تنظیمی پیچیده پایه‌ریزی می‌شوند. علاوه بر این، DNA در یک رشته کروماتین سازماندهی می‌شود که این امر تحمیل اطلاعات در توالی DNA را تسهیل می‌کند. کروماتین همچنین تبدیل اطلاعات اپی‌ژنتیکی به فرایندهای تنظیمی را پشتیبانی می‌کند که به نوبه خود رونویسی، همانندسازی، ترمیم و در موارد تخصصی حتی تغییرات توالی DNA را تحت تأثیر قرار می‌دهد. بازخورد متقابل رونویسی، فعالیت ترکیبی تنظیم‌کننده‌ها، اندازه ژنوم و پویایی زودگذر به پیچیدگی شبکه‌های تنظیم‌کننده ژن کمک می‌کند. از یک طرف، این امر منجر به تکامل برنامه‌های تکوینی برای طرح‌های پیچیده بدن شده است و از سوی دیگر، اغلب درک فرایندهای فردی را دشوار می‌کند؛ بنابراین، بررسی مکانیسم تنظیم کروماتین به سیستم‌های مدل مناسبی متکی است که عملکرد اجزای درگیر را ابهام زدایی می‌کنند. نشانه‌گذاری ژنومی و غیرفعال‌سازی کروموزوم X پدیده‌هایی هستند که نسخه‌های بیان شده و سرکوب‌شده ژن‌های فردی در همان نوکلئوپلاسم وجود دارند و مطالعه تنظیم فعالیت عامل رونویسی مبتنی بر کروماتین را تسهیل می‌کنند. علاوه بر این، رویکردهای مبتکر آن‌ها برای تجزیه و تحلیل حالت‌های بیان ارثی مبتنی بر کروماتین طراحی شده است که توسط کمپلکس‌های پروتئین‌های گروه پلی‌کومب^۱ و گروه تری‌توراکس^۲ کنترل می‌شوند. این فصل شامل نگرشی بر سازماندهی و عملکرد کروماتین است و مبنایی برای درک نقش کروماتین در تنظیم عملکرد سلولی توالی‌های DNA را فراهم می‌کند.

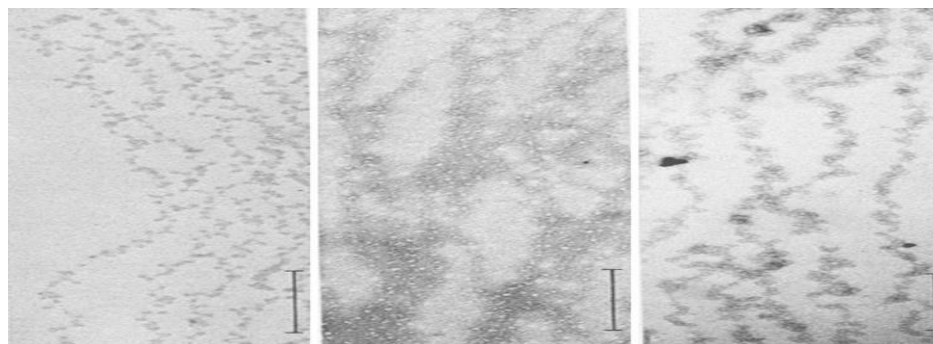
۱-۲-۱- کشف ساختار نوکلئوزومی ژنوم

آرایه‌های خطی ذرات کروی با قطر حدود ۷۰ آنگستروم ابتدا توسط میکروسکوپ الکترونی در کروماتین آزاد شده از سلول‌های حیوانی مشاهده شد (شکل ۱-۱) (اولینز و اولینز، ۱۹۷۴). فاصله منظم واحدهای کروی و این واقعیت که آرایش‌های مشابه در بسیاری از یوکاریوت‌ها یافت می‌شود، بیانگر شکل اساسی سازماندهی ژنوم است. با توجه به مشاهده ساختار منظم، استفاده از نوکلئازها برای شکستن محدود و بررسی ژل الکتروفورز، چندین قطعه ۱۵۰ جفت بازی DNA با فواصل منظم را نشان داده است. این نتایج با محافظت از حدود ۱۵۰ جفت باز DNA در برابر نوکلئاز مطابقت دارد؛ بنابراین برش نوکلئاز در ناحیه‌ای از DNA رخ می‌دهد که مابین ذرات کروی قرار دارد. بر اساس

^۱. Polycomb (PcG) proteins

^۲. Trithorax group (TrxG) proteins

این مطالعات، مشخص شده است که شناخت ژنوم نیاز به بررسی دقیق اجزای مولکولی ساختار نوکلئوزومی دارد.



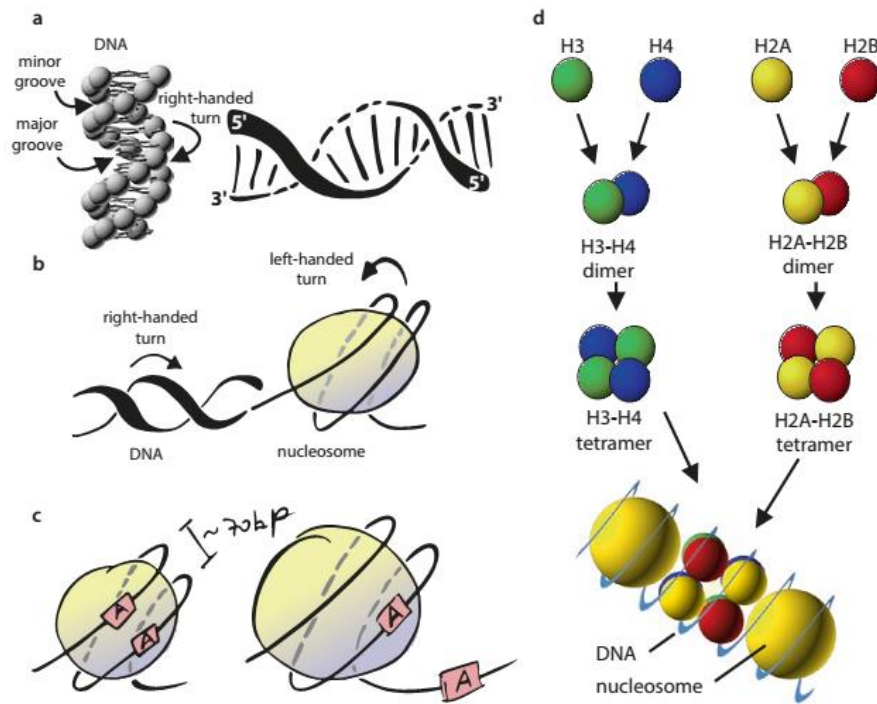
شکل ۱-۱: عکس میکروسکوپ الکترونی کروماتین یوکاریوتی. کروماتین تیموس موش صحرایی a رنگ آمیزی مثبت و b رنگ آمیزی منفی و c کروماتین گلبول قرمز مرغ (اولینز و اولینز، ۱۹۷۴).

۲-۱- ساختار نوکلئوزوم

یک نوکلئوزوم یک واحد تکراری تکی برای سازماندهی بیشتر DNA یک سلول است.^۱ هر نوکلئوزوم متشکل از ۸ پروتئین هیستون و ۱۴۶ جفت باز DNA است که دو دور چپگرد به دور هیستون پیچیده شده است^۲ (شکل ۲-۱ a-c). پروتئین‌های هیستون تشکیل یک کمپلکس هشت تایی را می‌دهد، سطح این کمپلکس متشکل از اسیدهای آمینه بازی با بار مثبت است که با گروه‌های فسفات با بار منفی DNA برهم‌کنش دارند. کمپلکس هشت تایی هیستون از دو دایمر H3/H4 و دو دایمر H2A/H2B تشکیل شده است (شکل ۲-۱ d). دایمرهای هیستون H3/H4 در مرکز نوکلئوزوم قرار دارند و دایمرهای H2A/H2B ارتباط ضعیف‌تری دارند (شکل ۲-۱-۳). پروتئین‌های هیستون یک دمین کروی با آرایش مارپیچ آلفا به نام تاخوردگی هیستون را تشکیل می‌دهند (لوگر و همکاران، ۱۹۹۷). نواحی انعطاف پذیر N-ترمینال پروتئین‌های هیستون، به نام دنباله‌های هیستونی، ارتباط ضعیف تری با نوکلئوزوم دارند و برای تغییرات پس از ترجمه در دسترس هستند.

^۱. یک استثنا برای سازماندهی نوکلئوزومی ژنوم‌های یوکاریوتی در گامت‌های نر حیوانات یافت می‌شود، جایی که هیستون‌ها تا حد زیادی با پروتامین، که پیکربندی ژنوم متمایز و بسیار فشرده را تسهیل می‌کند، جایگزین می‌شوند.

^۲. اگرچه واضح است که اکثریت بزرگ DNA در سلول‌ها به صورت چپ گرد در اطراف هیستون هشت تایی قرار گرفته‌اند، ولی پیشنهاد شده است که مارپیچ DNA راست گرد می‌تواند با ساختار نوکلئوزومی سازگار شود؛ و به طور تجربی در شرایط آزمایشگاهی تولید شود.



شکل ۱-۲: تصویری که جنبه‌های زیستی مرتبط با ساختار نوکلئوزوم را نشان می‌دهد. a DNA یک مارپیچ دو گانه راست‌گرد با دو رشته در جهت مخالف (ضد موازی) را تشکیل می‌دهد. مارپیچ DNA دارای شیار بزرگ و کوچک است که به موجب آن بازهای DNA شیار بزرگ بیشتر در دسترس هستند. b DNA به صورت چپگرد به دور هستون هشت‌تایی می‌پیچد. c در فاصله تقریبی ۷۰ جفت باز، دو حلقه DNA در یک سمت نوکلئوزوم قرار می‌گیرند. دو محل اتصال فرضی با کادر A نشان داده شده است. از آنجایی که هر پیچ DNA ۱۰ جفت باز دارد، هر دو کادر A بسته به موقعیت نوکلئوزوم از طریق شیار بزرگ در سطح قرار می‌گیرند. قرار گرفتن نوکلئوزوم در امتداد DNA اجازه تغییرات را در هندسه محل اتصال می‌دهد، تغییرات می‌تواند نقش تنظیمی در هندسه مکان اتصال داشته باشد. d مدلی برای سرهم‌بندی دایمرهای هستون نوکلئوزوم. DNA سرهم‌بندی شده به صورت نوکلئوزوم در پایین تصویر نشان داده شده است.

۱-۲-۱- انواع هستون

اگرچه ساختار نوکلئوزومی همگن به نظر می‌رسد، اما تغییر در ترکیب هستون عملکردهای مختلفی را می‌تواند ارائه کند. انواع مختلف هستون‌ها می‌توانند ترکیب شوند، به موجب آن تنوع در هستون های H3 و H2A رایج هستند، ولی هستون‌های H4 و H2B به نظر می‌رسد عمدتاً متنوع نباشند (متعارف است).

انواع هیستون توسط مجموعه ژن‌های مختلف رمزنگاری می‌شوند و تغییرات جزئی در توالی اسیدآمینه آن‌ها وجود دارد. در پستانداران، هیستون‌های H3.1 و H3.2 طی همانندسازی DNA در فاز S قرار داده می‌شوند، درحالی‌که هیستون H3.3 در تعویض هیستون در واحدهای رونویسی فعال و در هتروکروماتین پیرامون سانترومری و تلومری نقش دارند. گنجاندن هیستون H3.3 خارج از فاز S می‌تواند این‌گونه تبیین شود که آن تنها ژن هیستون H3 است که بیان آن به فاز S محدود نمی‌شود. هیستون‌ها پروتئین‌های بسیار بازی هستند، هنگامی که در موقعیت کروماتین قرار ندارند با چاپرون‌ها یا بارگذارها^۱ در سلول در ارتباط هستند (به فصل دوم کتاب مراجعه کنید). بارگذارهای مختلف هیستون در قراردادن انواع هیستون H3 نقش دارند. در طول فاز S، عامل سرهم‌بندی کروماتین^۲ هیستون‌های H3.1 و H3.2 را در DNA وارد می‌کند، درحالی‌که تنظیم‌کننده^۳ چرخه سلولی هیستون^۳ در گنجاندن H3.3 به داخل ژن‌های رونویسی‌شده نقش دارد. در هتروکروماتین پیرامون تلومری و سانترومری^۴، ATRX/DAXX^۵ برای وارد کردن هیستون H3.3 مورد نیاز است. در سانترومر سلول‌های پستانداران، هیستون متعارف H3 با پروتئین A سانترومر^۶ جایگزین می‌شود، این هیستون حاوی تعدادی اسیدآمینه متفاوت است و ساختار فشرده‌تری دارد. تصور می‌شود که پروتئین A سانترومر به استحکام مکانیکی کروماتین سانترومر که مبنای تشکیل کینتوکور (کینتوکور جایی است که میکروتوبول‌های دوک برای جداسازی کروموزوم در میتوز متصل می‌شوند) است، کمک می‌کند. بارگذار ویژه JHURP در وارد کردن پروتئین A سانترومر به سانترومرها نقش دارد.

^۱. Loader

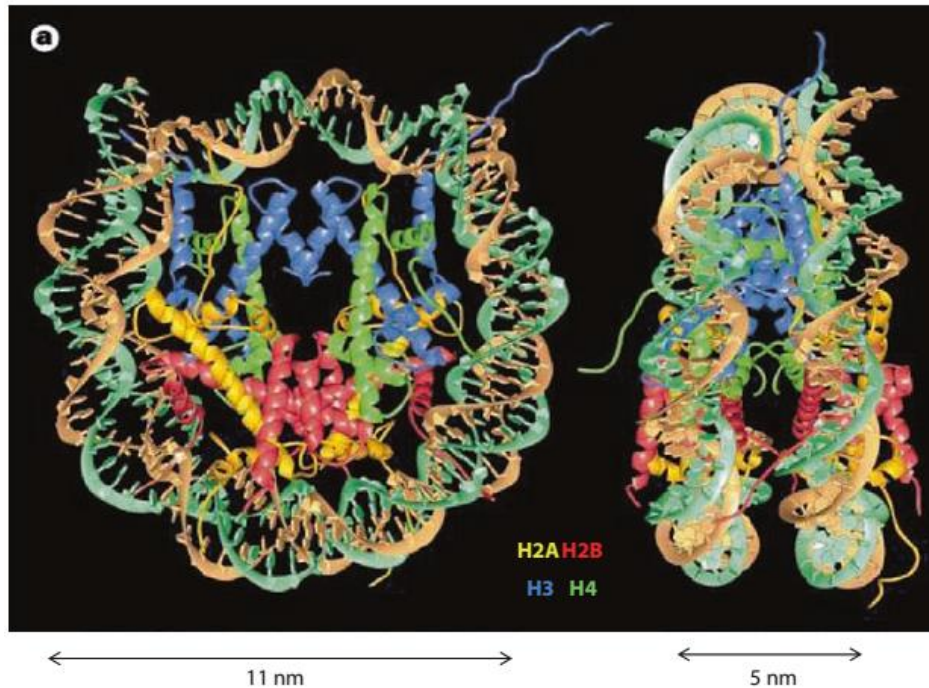
^۲. Chromatin assembly factor 1 (CAF-1)

^۳. Histone cell cycle regulator (HIRA)

^۴. کروماتین پیرامون سانترومر در نزدیکی سانترومر قرار دارد؛ و به‌طور طبیعی در یک پیکربندی هتروکروماتیک سرکوب‌شده قرار دارد.

^۵. Alpha-thalassemia mental retardation X-linked (ATRX) and death domain associated protein (Daxx)

^۶. Centromere protein-A (CENP-A)



شکل ۱-۳: یک مدل مبتنی بر تعیین ساختار کریستالوگرافی اشعه ایکس، جزئیات یک نوکلئوزوم را نشان می‌دهد. DNA به دور یک مرکز پروتئین هیستون هشت‌تایی (دایمرهای هیستون H3/H4، سبز و آبی، دایمرهای هیستون H2A H2B، قرمز و زرد) پیچیده شده است. دمن‌های کروی پروتئین‌های هیستون به صورت تاخوردگی مارپیچی و طولیل نشان داده شده‌اند و پپتیدهای N-ترمینال بدون ساختار، به مدل مزبور به صورت بیرون‌زده از مرکز می‌چسبند (لوگر و همکاران، ۱۹۹۷).

در بین ژن‌های هیستون H2A پستانداران، وارد کردن نوع H2A.z منحصر به پروموتورهای ژن‌های فعال می‌شود. این موضوع به نوعی تعجب‌آور است، زیرا H2A.z معرف شکل اجدادی H2A و ژن H2A پستانداران است که دارای بیشترین شباهت به ژن H2A مخمر ساکارومایسس سرویزیه است؛ بنابراین، H2A متعارف که در بیشتر کروماتین‌های پستانداران یافت می‌شود، دارای توالی اسیدآمینو کمی متفاوت با هیستون اجدادی است. انواع دیگر هیستون H2A با فعالیت ژن در ارتباط است. در حالی که H2A.B روی واحد رونویسی ژن‌های فعال کروماتین وارد می‌شود، ماکرو H2A در کروماتین خاموش تجمع پیدا می‌کند. ماکرو H2A یک نوع هیستون H2A مخصوص مهره داران است که دارای یک دنباله بزرگ C- ترمینال است که معمولاً به آن ماکرودمین می‌گویند. ماکرو H2A ها به‌وفور در کروموزوم X غیرفعال پستانداران ماده دیده می‌شود، این امر موافق ارتباط ماکرو H2A با کروماتین سرکوب‌شده از نظر رونویسی است (به فصل چهارم مراجعه کنید). از طریق تغییر

ترکیب پروتئین‌های هیستون، عملکرد نوکلئوزوم‌ها می‌تواند تغییر داده شود، این تغییر عملکرد، DNA طول ۱۴۶ جفت باز مربوط به نوکلئوزوم را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

۳-۱- تغییرات هیستون

تغییرات در ترکیب هیستون تنها راهی نیست که از طریق آن بتواند اطلاعات به نوکلئوزوم‌ها اضافه شود. پروتئین‌های هیستون در معرض تغییرات پس از ترجمه هستند. به‌طور خاص، N-ترمینال بدون ساختار هیستون‌ها به روش‌های مختلفی می‌تواند تغییر داده شود، به موجب آن، طیف تغییرات شیمیایی و پیچیدگی ترکیبی خیلی زیاد خواهد بود. فسفریلاسیون رزیدوهای سرین، استیلاسیون و متیلاسیون رزیدیوی لیزین و متیلاسیون رزیدیوهای آرژنین از برجسته‌ترین تغییرات هیستون هستند. قابل ذکر است که چندین گروه متیل به لیزین‌ها و آرژنین‌ها می‌تواند اضافه شود، در نتیجه، پیچیدگی افزایش پیدا می‌کند. انتقال یوبیکوئیتین به لیزین در هیستون H2A و H2B نیز نشان داده شده است. بهبود تکنیک‌های تحلیلی، تعداد فزاینده‌ای از تغییرات هیستون را نشان داده‌است و احتمالاً این روند کماکان در آینده نیز ادامه خواهد داشت. در حال حاضر، تغییرات پس از ترجمه هیستون‌ها و عملکرد آن‌ها به‌طور کامل درک نشده است. با این حال، توسعه آنتی‌سرم‌های ویژه برای تشخیص هیستون‌های تغییر یافته، بینش‌های کلیدی را ارائه کرده است.

۳-۱-۱- سیستم نام‌گذاری تغییرات هیستون

تنوع شیمیایی تغییرات و تعداد زیاد مکان‌های پذیرنده روی پروتئین‌های هیستون، توصیف وضعیت تغییر نوکلئوزوم‌ها را دشوار می‌کند. برای تسهیل در ارائه مدارک جامع و دقیق نتایج تجربی و تفسیرهای نظری بیشتر، جامعه علمی دستورالعمل‌هایی برای یک نام‌گذاری نظام‌مند وضع کرده است. طبقه پروتئین هیستون در ابتدا و به دنبال آن به ترتیب رمز تک حرفی آمینواسید، مکان^۱ آمینواسید تغییر داده شده و علامت اختصاری نوع تغییر شیمیایی نوشته می‌شود (شکل ۱-۴). به عنوان مثال، شکل کوتاه برای هیستون H3 که دو متیل روی لیزین شماره ۲۷ حمل می‌کند به صورت H3K27me2 نوشته می‌شود. به‌طور مشابه H2AK119ub به صورت زیر تعریف می‌شود: هیستون H2A که تغییر مونوئوبیکوئیتین را روی لیزین ۱۱۹ حمل می‌کند. برای زیرگروه دقیق هیستون شناخته شده نیز می‌توان از همین دستورالعمل استفاده کرد. برای مثال H3.3K4ac را می‌توان چنین بیان کرد: هیستون H3.3 که لیزین شماره ۴ آن استیل شده است. این نوع نام‌گذاری

^۱. شماره‌گذاری اسیدهای آمینه از N – ترمینال پروتئین‌ها شروع می‌شود؛ که با متیونین رمزگذاری شده توسط ATG آغازین ژن هیستون به دلیل فعالیت متیونین آمینوپتیداز متفاوت است.

چندمنظوره را به راحتی برای تغییرات متعدد می‌توان گسترش داد، مثلاً H3K9me3S10p را می‌توان به صورت زیر بیان کرد: هیستون H3 که دوبار تغییر داده شده، یکی اضافه شدن سه متیل روی لیزین ۹ و دیگری فسفریلاسیون روی سرین شماره ۱۰.

Nomenclatur of Histone modifications

Histone protein (isoform)	+	Amino acid code	+	modification
H3, H3.1, H3.3		K ... Lysine		p ... phospho
H4		R ... Arginine		ac ... acetyl
H2A, H2A.z, macroH2A		S ... Serine		me1 ... monomethyl
		followed by position		me2 ... dimethyl
H2B				me3 ... trimethyl

Examples

```

graph LR
    H3 --> H3S10
    H3 --> H3K4
    H3S10 --> H3S10p
    H3K4 --> H3K4me1
    H3K4 --> H3K4ac
    H3K4 --> H3K4me3
          
```

شکل ۴-۱: تصویری از سیستم نام‌گذاری شکل کوتاه برای تغییرات پس از ترجمه‌ای هیستون.

۱-۳-۲- تغییرات ترکیبی در هتروکروماتین پیرامون سانترومری

تغییرات هیستون با آنتی‌بادی‌های مناسب یا با استفاده از روش‌های بیوشیمیایی یا با تکنیک‌های رنگ‌آمیزی که با مشاهده به وسیله میکروسکوپ انجام می‌شود، می‌تواند مشخص شود. مورد اخیر (رنگ‌آمیزی و مشاهده با میکروسکوپ) در ترکیب با آشکارسازی با آنتی‌بادی ثانویه نشاندار شده با فلورسانس، برای بررسی حالات مختلف تغییر هیستون متفاوت در هسته استفاده شده است. تکنیک‌های میکروسکوپی برای نشان‌دار کردن با دو یا چند رنگ، مشاهده هم‌مکان‌سازی کمپلکس‌های پروتئین خاص با تغییرات هیستون را تسهیل کرده‌اند. این رویکردها برای توصیف انواع مختلف کروماتین در هسته مهم بوده است. هنگامی که با کاوشگرهای فلورسنت ترکیب می‌شود، با توالی‌های

ویژۀ DNA هیبرید می‌شوند، در نتیجه یک ارزیابی موقعیت ژنومی می‌تواند انجام شود، البته وضوح این روش در حد متوسط چند هزار جفت بازی و از این رو ده‌ها یا صدها نوکلئوزوم است. تکرارهای پیرامون سانترومری در سلول‌های موش به‌صورت خوشه‌های فشردۀ DNA دیده می‌شوند که به‌روشنی با رنگ‌های متصل‌شونده به DNA نظیر^۴، ۶-دی آمیدینو-۲-فنیل ایندول^۱ رنگ‌آمیزی می‌شوند. ارتباط H3K9me3 با ناحیۀ فشردۀ^۴، ۶-دی آمیدینو-۲-فنیل ایندول حکایت از همبستگی علامت متیلاسیون و ویژۀ هیستون با ناحیۀ هتروکروماتین پیرامون سانترومری دارد. اتصال H3K9me3 به کرومومدیم^۲ پروتئین هتروکروماتین^۳ منجر به تجمع پروتئین هتروکروماتین^۱ در هتروکروماتین پیرامون سانترومری می‌شود. سنجش هم‌مکان‌یابی با هتروکروماتین پیرامون سانترومری برای شناسایی اجزای اضافی استفاده شده است. حکایت آموزنده و شگفت‌انگیز سرم خودایمنی انسان، آنتی‌ژن کروموزومی میتوزی^۴ شناخت مختصری را فراهم می‌کند. علاقۀ اولیه به آنتی‌سرم آنتی‌ژن کروموزومی میتوزی^۱ زمانی افزایش یافت که به‌نظر می‌رسید سانترومرها را در میتوز شناسایی می‌کند؛ بنابراین اختصاصی بودن آن برای جزء بالقوۀ کینتوکور پیشنهاد شد. از آن‌جایی که آنتی‌ژن کروموزومی میتوزی^۱ هیچکدام از پروتئین‌های شناخته‌شده همراه کینتوکور را شناسایی نکرد ولی با طیف‌سنجی جرمی به‌جز پروتئین‌های هیستون، جزء دیگری شناسایی نشد. سرانجام وقتی که اختصاصی بودن آنتی‌ژن کروموزومی میتوزی^۱ در پنل پپتیدهای هیستون H3 دوبار تغییر داده شده بررسی شد، معما حل شد (هیروتا و همکاران). معلوم شد که آنتی‌ژن کروموزومی میتوزی^۱ دقیقاً H3K9me3S10P را تشخیص می‌دهد. H3K9me3S10p منحصرأ در هتروکروماتین پیرامون سانترومری در میتوز اتفاق می‌افتد؛ زمانی که سرین^{۱۰} به‌وسیله کینازهای چرخۀ سلول از جمله کیناز شبیه پولو^۵ فسفریله می‌شود. نقش فیزیولوژیکی فسفریلاسیون سرین^{۱۰}، جابه‌جایی پروتئین هتروکروماتین^۱ از هتروکروماتین پیرامون سانترومری در میتوز است. مشخص شده است که برهم‌کنش بین پروتئین هتروکروماتین^۱ و هیستون H3 برای حالت H3K9me3 اختصاصی است و با دو بار تغییر هیستون (H3K9me3S10p) برهم‌کنش پروتئین هتروکروماتین^۱ با H3 مختل می‌شود. این نتیجه به دو دلیل مهم است؛ اول این‌که به وضوح نشان می‌دهد که ترکیب‌های تغییرات هیستون در تنظیم سلولی می‌تواند نقش داشته باشد. ثانیاً، در بازنگری مشخص شد که آنتی‌سرم‌ها برای تغییرات هیستون ویژه، به تغییرات روی اسیدهای آمینه همسایه حساس هستند.

^۱. DAPI

(6' 4'-دی آمیدینو-۲-فنیل ایندول) یک رنگ فلورسنت است؛ که به DNA متصل می‌شود؛ و امکان تشخیص چگالی نسبی DNA در هسته را با میکروسکوپ فلورسانس فراهم می‌کند

^۲. Chromo-domain

^۳. Heterochromatin protein 1 (HP1)

^۴. Mitotic chromosomal antigens (MCAs)

^۵. Polo-like kinase (PLK)

این موضوع اشاره ضمنی برای تفسیر نتایج به‌دست‌آمده با چنین معرف‌های ایمنی دارد، به‌طوری که قصور در شناسایی پیام همیشه همبستگی با عدم حضور تغییر ندارد و به‌وسیلهٔ تداخل با تغییر همسایه نیز می‌تواند ایجاد شود. اگرچه فرض بر این است که در بیشتر موارد از تداخل تغییرات همسایه می‌توان چشم‌پوشی کرد ولی هیچ مطالعهٔ نظام‌مندی برای تعیین اعتبار این فرض وجود ندارد.

تحقیق بر روی هتروکروماتین پیرامون سانترومری نیز منجر به شناسایی هیستون متیل ترانسفرازها شده است. متیل ترانسفرازهای هومولوگ ۱ و ۲ با کروماتین پیرامون سانترومری ارتباط دارند و H3K9me3 را کاتالیز می‌کنند (شکل ۱-۵). H3K9me3 به‌عنوان مکان اتصال برای پروتئین هتروکروماتین عمل می‌کند و وساطت می‌کند تا هیستون متیل ترانسفرازهای دیگر، نظیر suvar4-20h1 و suvar4-20h2 به‌خدمت بگیرد که به نوبت H4K20me3 در نواحی پیرامون سانترومری را کاتالیز می‌کند (اشوتا و همکاران، ۲۰۰۴). این مثال نشان می‌دهد که تغییر H3 در همان موقعیت کروماتین بر روی هیستون H4 می‌تواند منتشر شود. مشاهدهٔ مشارکت چندین هیستون و تغییر در کروماتین پیرامون سانترومری حکایت از مکانیزمی برای پایداری هتروکروماتین دارد.

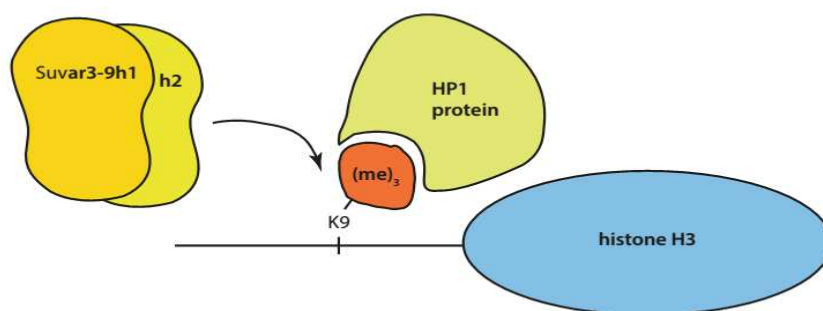
۱-۳-۳- تغییرات هیستون با وضوح بالا

در عمل موضوع جالب برای بررسی این است که کدام تغییر روی نوکلئوزوم‌ها در پروموتور ژن خاص وجود دارند. با دانستن فعالیت ژن‌ها، همبستگی‌های تغییرات هیستون را که عموماً با کروماتین سرکوب شده یا فعال مرتبط است بهتر می‌توان شناسایی کرد. برای بررسی این موضوع نیازمند دو پیش‌نیاز هستیم؛ اول، معرف‌های ویژه و مناسب برای آشکار کردن تغییر ویژهٔ یک هیستون مورد نیاز است. این امر به‌وسیلهٔ توسعهٔ آرایهٔ بزرگ آنتی‌بادی‌ها تسهیل می‌شود که به‌طور اختصاصی تغییر هیستون را شناسایی می‌کند. دوم، نیاز به روش شناسایی داریم تا بین هیستون‌های تغییر یافته و توالی DNA مرتبط با هیستون‌ها، ارتباط برقرار کنیم. با روش رسوب ایمنی کروماتین^۲ دقیقاً می‌توانیم این بررسی را انجام دهیم (جعبه ۱-۱).

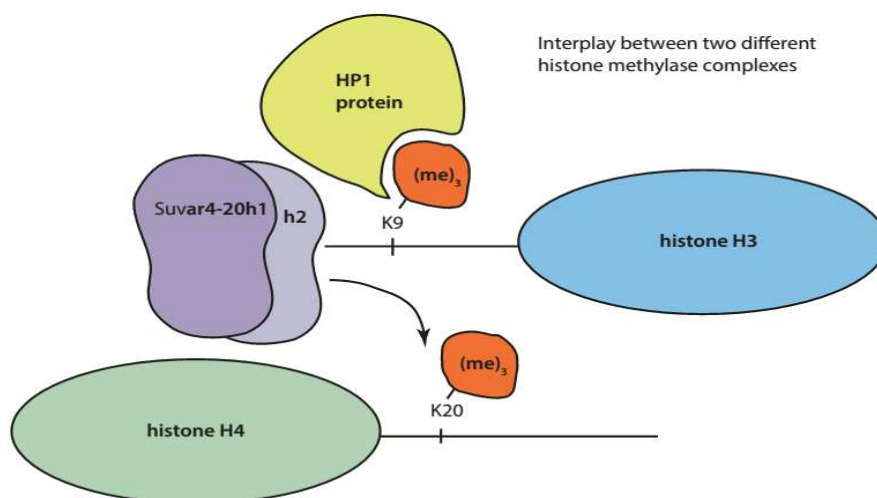
^۱. Suppressor of position variegation 3-9 homologues 1 and 2

^۲. Chromatin immunoprecipitation (ChIP)

The HMTs Suvar3-9h1 and Suvar3-9h2 catalyse tri-methylation of histone H3 lysine 9 in pericentric heterochromatin



tri-methylation of histone H3 lysine 9 is a signal for recruiting HP1 through its chromo-domain in pericentric heterochromatin



The HMTs Suvar4-20h1 and Suvar4-20h2 are recruited and catalyse tri-methylation of histone H4 lysine 20

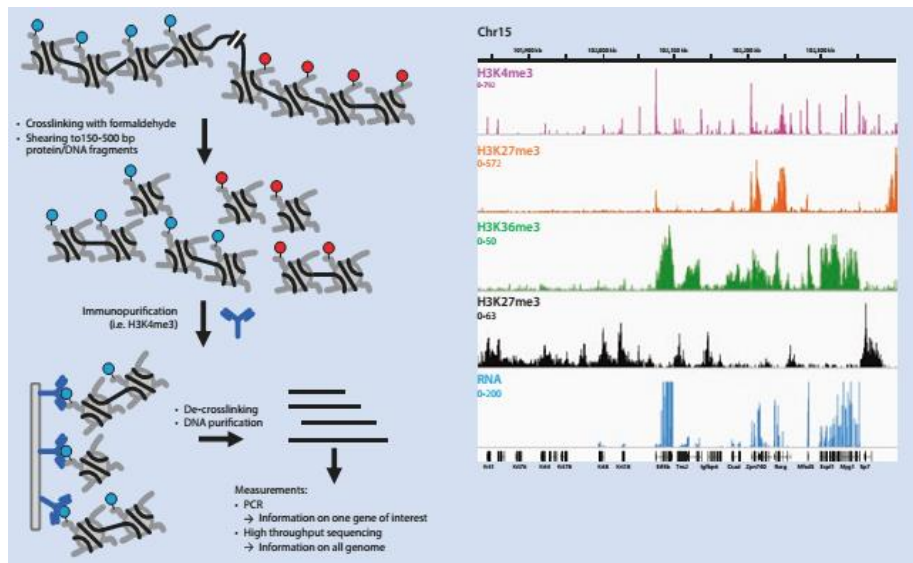
شکل ۵-۱: تصویری از علامت‌های هیستون در هتروکروماتین پیرامون سانترومری. هیستون متیل ترانسفرازهای هومولوگ ۲۱ باعث ایجاد H3K9me3 می‌شوند. لیزین ۹ تری‌متیله شده، به عنوان پیام اتصال پروتئین هتروکروماتین ۱ به هیستون H3 عمل می‌کند. اتصال پروتئین هتروکروماتین ۱ و به خدمت گرفتن هیستون متیل ترانسفرازهای Suvar4-20h1 و Suvar4-20h2، منجر به ایجاد H4K20me1 می‌شود (اشوتا و همکاران ۲۰۰۴).

کروماتین غنی از تغییر هیستون مشخص از طریق رسوب ایمنی با استفاده از آنتی‌بادی که تغییر هیستون ویژه را شناسایی می‌کند، جداسازی می‌شود. سپس DNA می‌تواند خالص و به وسیله انواع روش‌ها از جمله هیبریدسازی با ریزآرایه، اتصال آداپتور وتوالی‌یابی، PCR با پرایمرهای ویژه ژن یا

به‌وسیله هیبریدسازی روی دات بلات بررسی شود. مورد اخیر در اصل برای بررسی بخش‌های تا حد زیاد تکراری ژنوم، نظیر تکراری‌های پیرامون سانترومری استفاده می‌شود؛ درحالی‌که مورد اول، نقشه‌های گستره ژنوم تغییرات هیستون را با وضوح نوکلئوزومی می‌تواند در اختیار قرار دهد.

کادر ۱-۱. رسوب ایمنی کروماتین

تغییرات هیستون و اتصال عامل رونویسی با وضوح بالا به‌وسیله رسوب ایمنی کروماتین می‌تواند بررسی شود. برای بررسی با رسوب ایمنی کروماتین، وقتی که کروماتین به‌شکل طبیعی در سلول‌ها است، با استفاده از فرمالدهید، DNA به پروتئین‌های هیستون متصل می‌شود. متعاقباً سلول‌ها لیز می‌شوند و کروماتین یا به‌وسیله اولتراسوند یا از طریق هضم جزئی با نوکلئاز شکسته می‌شود. کروماتینی که همراه با تغییر هیستون ویژه یا پروتئین است به‌وسیله رسوب ایمنی با یک آنتی‌بادی ویژه غنی می‌شود. بعد از خالص‌سازی، کروماتینی که همراه DNA است از طریق دات بلات، PCR ویژه ژن و توالی‌یابی نسل بعدی^۱ می‌تواند بررسی شود (شکل کادر ۱-۱).



شکل کادر ۱-۱. بررسی تغییرات کروماتین به‌وسیله رسوب ایمنی کروماتین. شرح مختصری از بررسی رسوب ایمنی کروماتین (سمت چپ) و مثالی از مرورگر نقشه تغییر هیستون ویژه به‌دست آمده از توالی‌یابی نسل بعدی را نشان می‌دهد (سمت راست).

^۱. Next generation sequencing

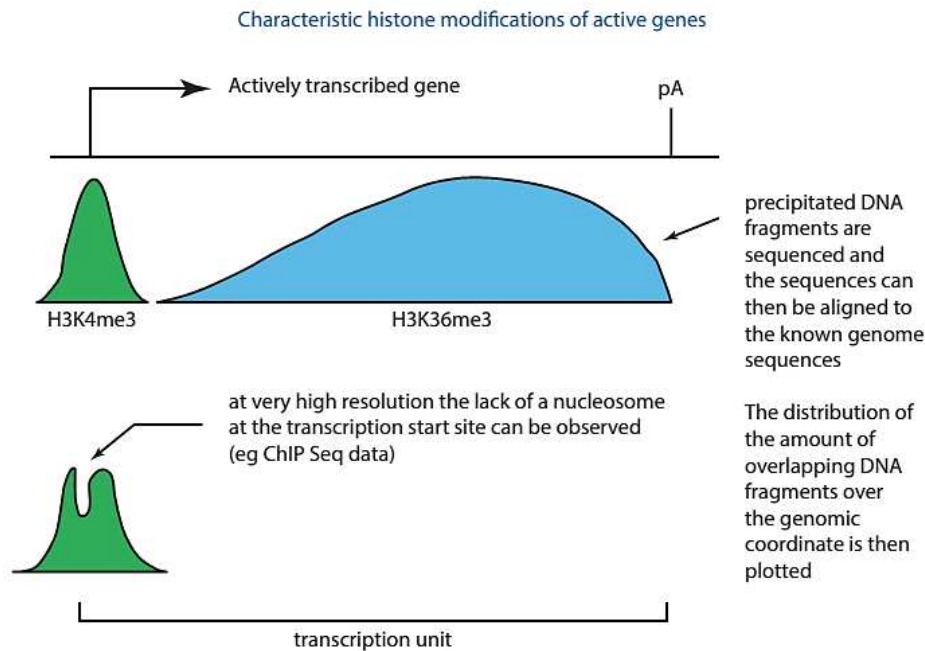
۱-۳-۴- تغییرات ژنتیکی مرتبط با واحدهای رونویسی

با بررسی چندین نوع مختلف سلول، همبستگی فعالیت ژن و تغییر هیستون در طول واحدهای رونویسی انجام شده است. برخی قوانین عمومی می‌تواند در این مورد استنتاج شود. پروموتورهای ژن اغلب به وسیله $H3K4me3$ علامت گذاری می‌شوند و لیزین استیله شده روی $H3$ و $H4$ را حمل می‌کند. جسم ژن^۱، ژن‌های فعال اغلب به وسیله $H3K36me3$ علامت گذاری می‌شوند. رخداد $H3K4me3$ در پروموتور و $H3K36me3$ روی جسم ژن نشانه قابل اعتمادی برای رونویسی است و از این نشانه برای شناسایی ژن‌های جدیدی (شکل ۱-۶) که آشکارسازی رونوشت آن‌ها به دلیل فراوانی پایین‌شان مشکل است، استفاده می‌شود (گاتمن و همکاران، ۲۰۰۹).

در مقابل، ژن‌هایی که به وسیله $H3K9me2$ یا $H3K9me3$ مشخص می‌شوند از نظر رونویسی تمایل دارند غیر فعال باشند. به طور مشابه، $H3K27me3$ و $H2AK119ub$ مرتبط با فعالیت کمپلکس‌های گروه پلی‌کومب^۲ هستند که سرکوب کننده‌های شناخته شده ژن‌های تنظیم کننده تکوینی محسوب می‌شوند (فصل سوم کتاب را ببینید). در سلول‌های اجدادی و سلول‌های بنیادی جنینی (فصل هفتم کتاب را ببینید) این علامت‌ها همچنین با علامت فعال $H3K4me3$ می‌تواند با هم رخ دهد. این مشاهدات منجر به کشف کروماتین دوظرفیتی با تغییرات به ظاهر فعال $H3K4me3$ و تغییرات سرکوبگر $H3K27me3$ شده است. به نظر می‌رسد این آرایش وقتی مشخص می‌شود که سلول‌ها تمایز پیدا کنند و آرایش‌های سرکوب شده $H3K27me3$ یا فعال $H4K4me3$ در دودمان سلولی جداگانه ایجاد کنند؛ بنابراین کمپلکس‌های گروه پلی‌کومب ممکن است قبل از اینکه حالت بیان ایجاد شود ژن‌های تنظیم شده تکوینی خاص را از پیش علامت گذاری کنند که این امر با انعطاف پذیری تکوینی سلول‌های اجدادی سازگار است (فصل سوم و هفتم کتاب را ببینید).

¹. Gene body

². Polycomb group (PcG)



شکل ۱-۶: تصویر بررسی تلفیق رسوب ایمنی کروماتین با تعیین توالی DNA (ChIPseq) واحد رونویسی ژن فعال فرضی. بیشینه H4K4me3 روی پروموتور ژن قرار می‌گیرد؛ درحالی‌که واحد رونویسی، افزایش H3K36me3 را به سمت انتهای 3' ژن نشان می‌دهد. اگر وضوح داده‌های به‌دست‌آمده بالا باشد، یک شکاف در بیشینه H4K4me3 در موقعیت مکان شروع رونویسی می‌تواند دیده شود. در مکان شروع رونویسی یک نوکلئوزوم جابه‌جا می‌شود و عوامل رونویسی عمومی به DNA متصل می‌شوند.

۱-۳-۵- مفهوم نویسندگان، خوانندگان و پاک‌کنندگان تغییرات هیستون

واکنش‌های شیمیایی که منجر به تغییرات پس از ترجمه پروتئین‌ها می‌شوند از کوفاکتورهای مسیرهای متابولیسمی استفاده می‌کنند. استیل‌کوآنزیم A، S-آدنوزیل متیونین و ATP به ترتیب برای استیلایسیون، متیلایسیون و فسفریلایسیون هیستون‌ها استفاده می‌شوند (فصل‌های اول و نهم را ببینید). فعالیت‌های آنزیمی متناظر به ترتیب هیستون‌استیل ترانسفرازها، هیستون متیلایزها^۱ و هیستون کینازها نامیده می‌شوند. به‌طور مشابه هیستون یوبی‌کوئیتین ترانسفراز، مونو یوبی کوئیتینیلایسیون را کاتالیز می‌کند. تغییرات پس از ترجمه پروتئین به فراوانی رخ می‌دهد و اعمال مختلفی دارند. همه تغییرات دارای یک عملکرد فیزیولوژیکی آشکار نیست، ممکن است مقادیر متغیری به‌عنوان واکنش‌های احتمالی ناظر باشد که سلول نمی‌تواند مانع آن‌ها شود. در تعدادی از

^۱. Histone acetyltransferases (HATs)

^۲. Histone methylases (HMTs)

موارد تغییرات بسیار اختصاصی طی تکامل به عنوان پیام انتخاب شده اند که می تواند اثرات عمیقی روی عملکرد کروماتین داشته باشد. چندین تغییر هیستون در رونویسی ژن ها نقش دارند. تغییرات دیگر در ایجاد پیام موروثی برای سرکوب دخالت می کنند. عملکردهای بسیار اختصاصی برای حالت های متیلاسیون ویژه لیزین در N - ترمینال هیستون H3 شناسایی شده است در حالی که استیلاسیون، کمتر می تواند اختصاصی باشد. استیلاسیون لیزین های هیستون ها بخشی از فرایند سرهم بندی کروماتین است و تصور می شود بار مثبت لیزین ها را حذف می کند و به موجب آن از برهم کنش قوی با گروه های فسفات با بار منفی DNA جلوگیری می کند. استیلاسیون لیزین های هیستون های H3 و H4 همچنین در ارتباط با پروموتورهای فعال است و به طور مشابه ارتباط هیستون ها با DNA را برای تسهیل قابلیت دسترسی، ضعیف می کند. این مشاهدات اثر بار استیلاسیون و مکانیزم های بیوفیزیکی دخیل در تنظیم قابلیت دسترسی موضعی کروماتین را نشان می دهد؛ اما این تمام داستان نیست.

پروتئین های دارای برومودمین^۱ می توانند به لیزین های استیله شده متصل شوند و تنظیم کننده های دیگر را جذب کنند. پروتئین هایی که به طور اختصاصی به هیستون های تغییر یافته متصل می شوند، به عنوان خوانندگان تغییرات هیستون در نظر گرفته می شوند. این گروه از پروتئین ها به طور ویژه برای شناسایی حالت های متیلاسیون خاص لیزین ها در N- ترمینال هیستون H3 اهمیت دارند. پروتئین هتروکروماتین^۱ با H3K9me3 از طریق کرومودمین می تواند ارتباط داشته باشد. برهم کنش تکی فقط انرژی اتصال اندک حاصل از اندازه کوچک تغییر ۳ متیل را فراهم می کند. ولی پروتئین هتروکروماتین^۱ از طریق مکانیزم اتصال تعاونی که اتصال چندین پروتئین هتروکروماتین^۱ را به نواحی طویل تر کروماتین تغییر یافته H3K9me3 افزایش می دهد، می تواند متصل شود. این موضوع غنی سازی پروتئین هتروکروماتین^۱ را روی نواحی پیرامون سانترومری کروموزوم های موش جایی که H3K9me3 فراوان است، توضیح می دهد. مشابه پروتئین هتروکروماتین^۱، پروتئین پلی کومب^۲ دارای یک کرومودمین ویژه H3K27me3 است (فصل سوم را ببینید). ارتباط کرومودمین ها در سلول ها به وسیله جایگزینی کرومودمین پروتئین پلی کومب با یکی از پروتئین هتروکروماتین^۱ تأیید شده است، به موجب آن، پروتئین به کروماتین پیرامون سانترومری هدایت می شود. دمین های پروتئین مشابهی برای خواندن سرین های فسفریله شده روی هیستون ها وجود دارد. به طور اساسی، پروتئین های ۱۴-۳ دارای ویژگی بالایی برای هیستون های دوبار تغییر یافته H3S10pK14ac هستند. این اختصاصی بودن در فعال سازی ژن ها نقش دارد. تغییر از حالت غیرفعال اتصال پروتئین

^۱. برومو-؛ و کرومودمین بر اساس شباهت توالی در تعدادی از پروتئین های مرتبط با کروماتین تعریف می شوند. آنها تغییرات پس از ترجمه؛ و تغییرات توالی هیستون ها را در موقعیت نوکلئوزوم تشخیص می دهند.

^۲. Polycomb (Pc)

هتروکروماتین^۱ به H3K9me3 به حالت فعال H3K9me3S10pK14ac طی فعال‌سازی مهارکننده چرخه سلولی P21 که یک ژن مهم سرکوبگر تومور است، توصیف شده است (فصل هشتم را ببینید). فسفریلاسیون سرین ۱۰ هیستون H3 به وسیله کیناز تنظیم‌شده با پیام خارج سلولی^۱ با اتصال پروتئین هتروکروماتین^۱ به H3K9me3 تداخل می‌یابد و در صورت استیله‌شدن لیزین ۱۴، به‌طور همزمان اتصال پروتئین‌های ۱۴-۳-۳ را تسهیل می‌کند. این مکانیزم نشان می‌دهد که چگونه پیام‌دهی سلول با تغییرات ترکیبی هیستون در مکانیزم‌های پیچیده تنظیمی ژن، تلفیق می‌شود. آخرین جنبه تغییرات هیستون، پایداری آن‌ها است. بسته به ماهیت شیمیایی‌شان، تغییرات هیستون طول عمر متفاوتی دارد. درحالی‌که فسفریلاسیون به آسانی از طریق فسفاتاز برگشت‌پذیر است، تغییرات تری متیل لیزین ممکن است مدت طولانی‌تری باقی بماند. هیستون‌داستیلازها^۲ و هیستون دمتیلازها^۳ (یا KDMs برای لیزین دمتیلاز) به ترتیب گروه‌های استیل و متیل را از روی لیزین برمی‌دارند.

علاوه‌براین، آنزیم‌های یوبی کوئیتینه‌کننده در ترن اور یوبی کوئیتین مشارکت دارند. تا به امروز مکانیزم‌های حذف آنزیمی همه تغییرات هیستون مشخص شده است، این امر حاکی از این است که تغییرات پس از ترجمه کروماتین پویا هستند و فعالانه به وسیله سلول تنظیم می‌شوند. پروتئین‌ها یا کمپلکس‌هایی را که تغییرات هیستون را حذف می‌کنند به عنوان پاک‌کننده‌های اطلاعات اپی‌ژنتیکی در نظر می‌گیرند؛ در حالی که برخی از تغییرات هیستون به وسیله تکامل برای عملکرد تنظیمی انتخاب شده‌اند. تغییرات دیگر ممکن است اهمیت کمتری داشته باشد. مثال‌های مربوط به عملکرد تغییرات هیستون در شرایط فیزیولوژیکی‌شان در فصل‌های بعدی کتاب شرح داده خواهد شد.

۴-۱- تغییرات DNA

تغییرات هیستون نشان می‌دهد که چطور بدون تغییر توالی DNA می‌توان اطلاعات را به ژنوم اضافه کرد. این دقیقاً همان تعریفی است که در ابتدای کتاب از اپی‌ژنتیک ارائه دادیم. هم‌چنین فعالیت‌های آنزیمی برای ایجاد و برداشتن تغییرات نشان می‌دهد که چطور این اطلاعات ممکن است به‌طور پویا طی تکوین یا در پاسخ به محرک‌های خارجی تنظیم شود. ولی ما هم‌چنین گمان می‌کنیم که موارد ذیل را به راحتی نمی‌توان توضیح داد: چطور الگوهای بالقوه پیچیده تغییرات هیستون، ممکن است از طریق تقسیم سلول منتقل شود؟ در همانندسازی DNA تعداد دو برابر نوکلئوزوم‌ها باید سرهم بندی شوند. این موضوع ایجاب می‌کند که نیمی از هیستون‌های جدید تولید شوند؛

¹. Extracellular signal-regulated kinase (ERK)

². Histone deacetylases (HDACs)

³. Histone demethylases (HDMs)

درحالی که نیمی دیگر الگوهای تغییر قبلی را حفظ کنند (فصل دوم را ببینید). چطور اطلاعات روی هیستون‌های جدید می‌تواند ایجاد شود؟ یا اینکه آیا اطلاعات بازگردانده نمی‌شود و از دست می‌رود؟ دلایل خوبی وجود دارد که تغییر اپی ژنتیکی حفظ می‌شود ولی به نظر می‌رسد مکانیزم‌ها پیچیده باشد و شناخت ما در این زمینه ناچیز است. ما برای شناخت مشکل وراثت‌پذیری اپی ژنتیکی به سیستم خیلی ساده‌تر روی می‌آوریم که با میانجی‌گری مکانیزم مختصر انجام داده می‌شود.

۱-۴-۱- متیلاسیون سیتوزین DNA

باز سیتوزین DNA در ژنوم‌های گیاه و جانور به‌طور شیمیایی به ۵- متیل سیتوزین می‌تواند تغییر داده شود. این تغییر در بیشتر حیوانات مشاهده می‌شود ولی به‌وضوح در برخی از جانداران مدل آزمایشگاهی نظیر نماتد (سی الگانس)^۱ مگس سرکه و مخمرهای ساکارومایسس سروپوزیه و شیزوساکارومایسس پومبه^۲ وجود ندارد. اگرچه ۵- متیل سیتوزین در همه جا وجود ندارد ولی به‌طور گسترده در حیوانات و گیاهان توزیع شده است.^۳ به‌طور ویژه متیلاسیون DNA برای تکوین پستانداران اساسی است و به‌دلیل نقش آن در خاموشی ژن‌های سرکوبگر تومور در انواع معین سرطان انسان، مطالعه شده است (فصل هشتم را ببینید).

۵- متیل سیتوزین به‌وسیله فعالیت DNA متیل ترانسفرازها^۴ کاتالیز می‌شود که از S- آدنوزیل متیونین^۵ به‌عنوان دهنده متیل استفاده می‌کند. مرکز کاتالیتیک DNA متیل ترانسفرازهای پستانداران، شبیه مرکز کاتالیتیک DNA متیلازها است که از اجزاء سیستم‌های محدود باکتریایی هستند. واکنش DNA متیل ترانسفراز شامل حمله به موقعیت کربن شماره ۶ حلقه سیتوزین توسط گروه تیول سیستئین است که منجر به تشکیل پیوند کووالان بین سیتوزین و DNA متیل ترانسفرازها می‌شود. مکانیزم واکنش DNA متیل ترانسفرازها تشکیل یک حد واسط است که DNA متیل ترانسفرازها را موقتاً به DNA وصل می‌کند (شکل ۱-۷). این حالت حدواسط متعاقباً به‌وسیله انتقال گروه متیل از S- آدنوزیل متیونین به موقعیت ۵ حلقه سیتوزین، جداکردن پروتون و رهاسازی آنزیم DNA متیل ترانسفرازها از بین می‌رود. بعد از رهاسازی، آنزیم‌های DNA متیل ترانسفراز برای چرخه واکنش بعدی در دسترس هستند. مشتق سازی سیستم حلقه باز DNA مستلزم دسترسی به باز است. با بررسی ساختاری DNA متیلاز باکتریایی پیشنهاد شده است که سیتوزین با چرخش

^۱. *Caenorhabditis elegans*

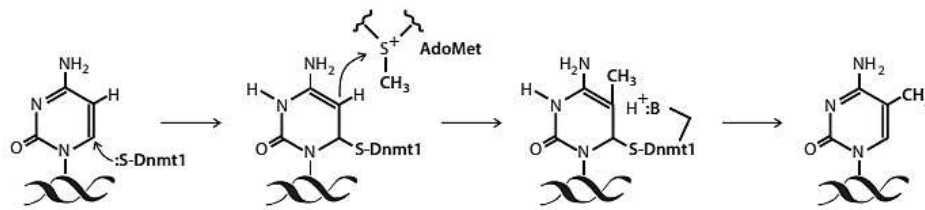
^۲. *Schizosaccharomyces pombe*

^۳. متیلاسیون DNA در زنبورهای عسل؛ و مورچه‌ها مشاهده شده است؛ که این امر نشان می‌دهد متیلاسیون DNA در حشرات وجود دارد. سیستم متیلاسیون DNA احتمالاً در طول تکامل در مگس سرکه از بین رفته است.

^۴. DNA methyltransferases (DNMTs)

^۵. S-adenosyl-methionine (SAM)

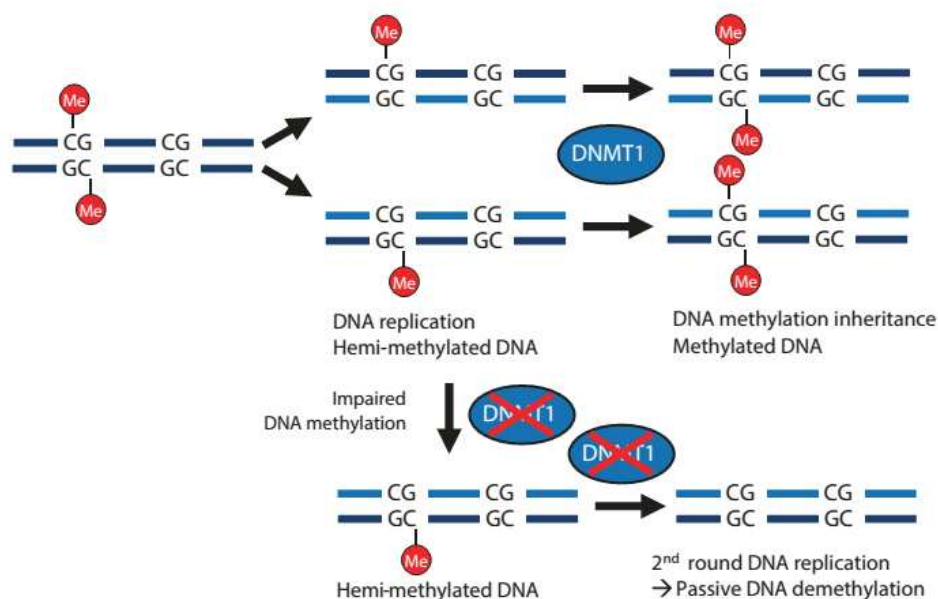
استخوان‌بندی قند- فسفات DNA به سمت بیرون مارپیچ دوگانه DNA قرار می‌گیرد. به این ترتیب، باز در داخل یک پاکت عمیق می‌تواند قرار داده‌شود که S- آدنوزیل متیونین و رزیدیوهای کاتالیتیک در تماس نزدیک با موقعیت‌های ۵ و ۶ حلقه سیتوزین هستند.



شکل ۱-۷: مکانیسم کاتالیتیک متیلاسیون DNA. DNA متیل ترانسفرازها به موقعیت شماره ۶ حلقه پیریمیدین سیتوزین ضمیمه می‌شود و تشکیل یک حد واسطه کووالان را می‌دهد. متیلاسیون موقعیت شماره ۵ یک جابه‌جایی الکترون‌ها را القا می‌کند و آنزیم را آزاد می‌کند.

روش‌های مختلفی برای بررسی متیلاسیون DNA در ژن‌های خاص و در کل ژنوم توسعه داده شده است (جعبه ۱-۲). ۵- متیل سیتوزین در ژنوم‌های پستانداران ترجیحاً در موقعیت دی نوکلئوتیدهای CG یافت می‌شود، اما در موقعیت‌های دیگر توالی سیتوزین‌ها مانند CC، CA و CT دیده نمی‌شود. دلیل این امر زمانی مشخص می‌شود که همانندسازی DNA و حفظ و نگهداری الگوهای متیلاسیون در نظر گرفته شود. دی نوکلئوتیدهای CG نشان‌دهنده یک پیکربندی متقارن در رشته DNA ضد موازی هستند، زیرا جفت‌های C با G و رشته‌های DNA دارای قطبیت مخالف در مارپیچ دوگانه هستند.

اگر DNA با دی نوکلئوتیدهای CG متیله‌شده متقارن، روی هر دو رشته تکثیر شود، دو نسخه ایجاد می‌شود که هر نسخه دارای یک رشته متیله و یک رشته غیرمتیله (تازه ساخته شده) است. آنزیم‌های DNA متیل ترانسفراز به کار گرفته می‌شود تا DNA نیمه‌متیله شده را به الگوی متقارن کاملاً متیله برگرداند (شکل ۱-۸). این مکانیسم نیاز به شناسایی دی نوکلئوتیدهای CG نیمه‌متیله و فعال‌سازی فعالیت متیلاسیون برای بازگرداندن الگو روی رشته جدید ساخته‌شده دارد تا علائم اپی‌ژنتیکی به درستی حفظ شود. این مکانیسم به لحاظ مفهومی ساده، وراثت‌پذیری اطلاعات اپی‌ژنتیکی خاص از طریق تقسیم سلول را می‌تواند توضیح دهد. به‌زودی خواهیم دید که جزئیات مولکولی این رویداد به این سادگی نیست، اما درک مفهوم کلی، واضح و آسان است.



شکل ۸-۱: مدلی برای حفظ کردن الگوهای متیلاسیون CpG در ژنومهای پستانداران. پس از یک دور تکی همانندسازی DNA، DNA نیمه‌متیله شده تولید می‌شود. بازگرداندن متیلاسیون DNA روی رشته DNA تازه ساخته شده منجر به الگوی قابل توارث متیلاسیون DNA می‌شود. DNA متیل ترانسفراز ۱ آنزیمی است که برای سوبستراهای نیمه‌متیله هدف‌گیری می‌شود و فعالیت حفظ DNA متیل ترانسفراز را دارد. ۵- متیل سیتوزین اصلی از بین نمی‌رود ولی سیتوزین غیرمتیله در DNA تازه ساخته شده وجود دارد. از این رو اگر الگوهای متیلاسیون CpG بعد از دو دور همانندسازی DNA بازگردانده نشوند، انتظار داریم DNA تازه ساخته شده کاملاً غیرمتیله باشد. این امر منجر به از دست رفتن اطلاعات اپی ژنتیکی از طریق دِمتیلاسیون غیرفعال وابسته به تکثیر می‌شود.

اگر متیلاسیون به دلایل غیرفعال بودن آنزیم DNA متیل ترانسفراز یا در دسترس نبودن آن، اتفاق نیافتد چه اتفاقی رخ خواهد داد؟ بعد از دور دیگر تقسیم سلول، ژنومهایی پدیدار خواهند شد که به‌طور کامل متیلاسیون DNA هر دو رشته را نداشته، از این رو اطلاعات اپی ژنتیکی متناظر را از دست می‌دهند (شکل ۸-۱).

ما انتظار داریم دِمتیلاسیون برای نیمی از همه سلول‌ها که از آخرین جد با متیلاسیون کاملاً متقارن نشأت گرفته‌اند، رخ دهد. تقسیمات سلولی بیشتر منجر به افزایش دِمتیلاسیون می‌شود. مادامیکه که الگوهای متیلاسیون بازگردانده نمی‌شوند و تنها رشته‌های DNA نیمه‌متیله شده باقی مانده، آن‌هایی هستند که از آخرین سلول اجدادی به‌طور کامل متیله شده به ارث رسیده‌اند.

در ژنوم‌های پستانداران، فراوانی نوکلئوتیدهای CG کمتر از فراوانی مورد انتظار، مشاهده می‌شوند.^۱ در نتیجه، نواحی طویل DNA دارای تراکم نسبتاً کمی از ۵- متیل سیتوزین است. برای تبیین این مشاهده، سایش تکاملی دی نوکلئوتیدهای CG متیله پیشنهاد شده است. دآمیناسیون سیتوزین منجر به ایجاد یوراسیل می‌شود که به‌عنوان باز غیرمجاز در DNA شناخته می‌شود و به‌طور کارآمد جایگزین می‌شود. محصول دآمیناسیون ۵- متیل سیتوزین، تیمین است که باز معتبری در DNA است و ممکن است ترمیم نشود بنابراین می‌تواند ثابت شود. اگر موتاسیون‌های C به T در لاین زایا رخ دهند آن‌ها در دوره تکاملی تجمع پیدا می‌کنند و کمبود کلی دی نوکلئوتیدهای CG در ژنوم گونه‌های دارای متیلاسیون DNA را توضیح می‌دهد. این دیدگاه با مشاهده اینکه ژنوم متیله مگس سرکه کمبود دی نوکلئوتید CG را نشان نمی‌دهد، پشتیبانی می‌شود.

همچنین در ژنوم‌های پستانداران نواحی با تعدادی نوکلئوتیدهای مورد انتظار CG وجود دارد. این نواحی به‌عنوان جزایر ۵۰۰-۱۰۰۰ جفت بازی با تراکم زیاد موضعی CG در مقایسه با بیشتر ژنوم ظاهر می‌شود. این جزایر CpG مرتبط با پروموتورهای ژن بوده و به‌طور طبیعی فاقد هرگونه ۵- متیل سیتوزین هستند. ولی متیلاسیون سیتوزین در جزایر CpG در موقعیت‌های فیزیولوژیک خاص رخ می‌دهد. جزایر CpG روی کروموزوم X غیرفعال در سلول‌های پستانداران ماده، به‌عنوان پیامد سرکوب رونویسی متیله می‌شود (فصل چهارم را ببینید). علاوه‌براین، متیلاسیون پروموتورهای جزایر CpG ژن‌های سرکوبگر تومور در تومورهای انسانی مهم است (فصل هشتم را ببینید). نشان داده‌شده که دمتیلاسیون DNA پروموتورهای ژن‌های سرکوبگر تومور، منجر به فعال‌سازی مجدد آن‌ها و باعث توقف چرخه سلولی و مرگ سلول‌های تومور می‌شود؛ بنابراین DNA متیل ترانسفرازها به‌عنوان اهداف بالقوه برای درمان تومورهای انسانی پیگیری می‌شوند (فصل هشتم را ببینید).

عملکرد فیزیولوژیکی متیلاسیون DNA به‌وسیله بررسی ژنتیکی معکوس در موش مطالعه شده است. موش‌ها دارای سه ژن با فعالیت کاتالیتیک DNA متیل ترانسفراز هستند. DNA متیل ترانسفراز ۱ به‌عنوان حفظ DNA متیل ترانسفراز در نظر گرفته می‌شود و بیشتر متیلاسیون سیتوزین جفت‌شده با همانندسازی را کatalیز می‌کند. این آنزیم همان آنزیمی است که قبلاً در این فصل برای مکانیزم ساده به‌ارث‌بردن الگوهای متیلاسیون DNA به آن استناد کردیم. علاوه بر این، دو آنزیم DNA متیل ترانسفراز 3A و DNA متیل ترانسفراز 3B وجود دارند که DNA متیل ترانسفرازهای از نو^۲ در نظر

^۱. در قسمتی از DNA پستانداران، CG‌های کمتری نسبت به سایر ترکیبات دی نوکلئوتیدی ممکن نظیر GC، AT، TA، AC، CA، AG، GA، CT، TC، GT، TG، AA، CC، GG و TT وجود دارد. در گیاهان، CNG به جای CG، به عنوان موتیف توالی ظاهر می‌شود؛ مانند CG، CNG در هر دو رشته DNA متقارن است.

^۲. در واژه جزایر CpG، p نشان دهنده پیوند فسفر-ریبوز، اغلب به جای جزایر CG استفاده می‌شود تا نشان دهد؛ که منظور دی نوکلئوتیدهای CpG است نه جفت بازهای CG.

^۳. *De novo*

گرفته می‌شود. تصور می‌شود که این DNA متیل ترانسفرازها الگوهای متیلاسیون DNA را ایجاد می‌کنند و توسط عوامل دیگر به سمت کروماتین هدف گرفته می‌شوند. همه DNA متیل ترانسفرازها دارای شباهت توالی مشخصی در دمین‌های کاتالیتیک‌شان هستند. در موش‌ها DNA متیل ترانسفراز ۱ و DNA متیل ترانسفراز 3B برای تکوین جنینی اساسی هستند. همچنین موتاسیون های DNA متیل ترانسفراز 3B با نقص ایمنی، ناپایداری کروموزومی و سندرم ناهنجاری صورت^۱ در انسان مرتبط است که این امر نشان‌دهنده مشارکت DNA متیل ترانسفراز 3 در عملکرد سانتر و پایداری ژنومی است. بخشی از نقایص ناشی از ازدست‌دادن DNA متیل ترانسفراز ۱، فعال‌سازی عناصر ژنومیک شبیه رتروویروس است که به آن ذرات A داخل سیسترنای^۲ می‌گویند. ازدست‌دادن DNA متیل ترانسفراز ۱ همچنین باعث مرگ سلولی سلول‌های تمایز یافته می‌شود، ولی ممکن است تا حدی در سلول‌های ترانسفورم تحمل شود. به نظر می‌رسد باکمال تعجب سلول‌های اولیه جنینی، از دست‌رفتن متیلاسیون DNA را تحمل می‌کنند. مطالعات نشان داده‌است که متیلاسیون DNA برای تنظیم ژن حیاتی است. به‌طور خاص تنظیم ژن به‌وسیله نشانه‌گذاری ژنومی ارتباط نزدیکی با متیلاسیون سیتوزین دارد (فصل پنجم را ببینید).

بررسی اثرات موتاسیون‌ها بر متیلاسیون DNA منجر به شناسایی عواملی شد که در سیستم متیلاسیون DNA پستانداران نقش دارند. این عوامل عبارت‌اند از : SmcHD1^۳ که در متیلاسیون DNA و بیان ژن در پروموتورهای روی کروموزوم X غیر فعال مشارکت دارد، DNA متیل ترانسفراز 3L غیر کاتالیتیک که همراه با DNA متیل ترانسفراز 3A در ایجاد الگوهای متیلاسیون DNA در رده زیا عمل می‌کند و UHRF1^۴ که پروتئین هسته‌ای ۹۵ کیلودالتونی NP95^۵ نیز نامیده می‌شود. UHRF1 برای ارتباط DNA متیل ترانسفراز ۱ با ماشین تکثیر مورد نیاز است. UHRF1 یک دمین اختصاصی برای اتصال به DNA نیمه‌متیله دارد. مطالعات بیشتر منجر به کشف این موضوع شده است که UHRF1 دارای فعالیت کاتالیتیک است و در یوبی کوئیتینیلایسون لیزین ۲۳ و H3 ۱۸ نقش دارد. H3K23ub و/ یا H3K18ub، DNA متیل ترانسفراز ۱ را به خدمت می‌گیرد تا DNA نیمه‌متیله را به الگوی تمام‌متیله تغییر دهد. جالب است بدانید که تغییرات هیستون یک بخش لازم برای مسیر حفظ الگوهای متیلاسیون DNA است. همپوشانی و ارتباط بیشتری بین DNA و تغییرات هیستون در فصل‌های این کتاب خواهیم دید.

^۱. Facial abnormalities (ICF) syndrome

^۲. Intra-cisternal A-particles (IAPs)

^۳. Structural maintenance of chromosomes hinge domain 1

^۴. Ubiquitin like with PHD and ring finger domains 1

^۵. Nuclear protein 95kDa (NP95)

گروه متیل ۵- متیل سیتوزین در شیار بزرگ مارپیچ دورشته‌ای DNA قرار داده می‌شود تا بتواند در دسترس خوانندگان متیلاسیون DNA باشد. دمین‌های پروتئینی شناسایی شده‌اند که در اتصال ویژه به DNA متیله‌شده یا متیله‌نشده نقش دارند. UHRF1 دارای چنین دمی‌نی برای شناسایی DNA نیمه‌متیله است. خانواده‌ای از پروتئین‌های متصل‌شونده به DNA دارای دمین متصل‌شونده به متیل- DNA است. در این خانواده پروتئین‌ها، پروتئین متصل‌شونده به متیل- سیتوزین ۱۲ به‌طور اختصاصی ۵- متیل سیتوزین را شناسایی می‌کند. عملکرد پروتئین متصل‌شونده به متیل- سیتوزین ۲ به‌طور کامل مشخص نیست، ولی به‌نظر می‌رسد که بیان ژن را ماهرانه تحت تأثیر قرار می‌دهد. نشان داده شده است که موتاسیون‌های مؤثر بر پروتئین متصل‌شونده به متیل- سیتوزین ۲ باعث سندرم RETT در انسان می‌شود (تابلو ۱-۱).

سندر پرم RETT به نام کاشف آن نام‌گذاری شد و معرف اختلال عصبی تکوینی است. این بیماری عمدتاً دخترانی را تحت‌تأثیر قرار می‌دهد که در ابتدا به‌نظر می‌رسد تکوین طبیعی دارند ولی در یک سالگی سیر قهقرایی دارند و علائمی عصبی را نشان می‌دهند که با علائم اوتیسم همپوشانی دارد. موتاسیون در حالت هتروزیگوت است و پروتئین متصل‌شونده به متیل- سیتوزین ۲ روی کروموزوم X قرار دارد. به‌دلیل غیرفعال‌سازی تصادفی کروموزوم X، تنها نیمی از سلول‌های بیماران، فاقد بیان پروتئین متصل‌شونده به متیل- سیتوزین ۲ هستند؛ در حالی که نیمی دیگر از نظر فنوتیپی طبیعی هستند. مطرح شده است که حضور سلول‌های دارای نقص در پروتئین متصل‌شونده به متیل- سیتوزین ۲ ممکن است اثر غالب در مختل کردن عملکردهای مغز داشته باشند که احتمالاً به‌دلیل تغییرات دقیق در بیان ژن در سلول‌های عصبی و گلیا است. یک مدل موش در آزمایشگاه ایجاد شد که برخی نقایص عصبی برای مطالعه مکانیزم بیماری را نشان می‌دهد. آزمایش‌هایی که بازگرداندن عمل پروتئین متصل‌شونده به متیل- سیتوزین ۲ بعد از توسعه علائم را امکان‌پذیر می‌سازند، نشان دادند که فنوتیپ‌های عصبی می‌توانند معکوس شوند (گای و همکاران، ۲۰۰۷).

این یافته‌ها تلاش‌هایی برای فعال‌سازی مجدد رونوشت دست‌نخورده پروتئین متصل‌شونده به متیل- سیتوزین ۲ در بیماران انسانی را که یک نسخه دست‌نخورده ژن روی کروموزوم X غیرفعال قرار دارد، برانگیخته است. اگر این رویکردها موفقیت‌آمیز بودند و پروتئین متصل‌شونده به متیل- سیتوزین ۲ دوباره می‌توانست فعال شود، احتمالاً با حذف متیلاسیون DNA درمانی برای این بیماری ویرانگر می‌تواند پیدا شود. ولی باید احتیاط کرد؛ زیرا امیدهایی که بر پایه مدل موش حاصل شده، همه فنوتیپ‌های مشاهده‌شده در انسان‌ها را نشان نمی‌دهند. موش‌هایی که کاملاً فاقد پروتئین متصل‌شونده به متیل- سیتوزین ۲ هستند، زنده مانده و علائم عصبی را نشان می‌دهند، درحالی‌که عدم

¹. Methyl-cytosine binding protein 2 (MeCP2)

حضور پروتئین متصل شونده به متیل- سیتوزین^۲ در همه سلول‌ها در انسان کشنده است؛ بنابراین موتاسیون‌های پروتئین متصل شونده به متیل- سیتوزین^۲ به‌طور کلی در نرها مشاهده نمی‌شود.

تابلو ۱-۱: اجزای سیستم‌های تغییر DNA که در بیماری انسانی موتاسیون یافته‌اند.

بیماری	ژن
سندرم ICF	DNMT3B
سندرم RETT	MeCP2
بدخیمی‌های هماتوپوئیتیک	DNMT3A
بدخیمی‌های هماتوپوئیتیک	TET2

روش دوم این است که چگونه متیلاسیون DNA با جلوگیری از شناسایی مکان‌های اتصال توسط عوامل رونویسی، می‌تواند بیان ژن را تحت تأثیر قرار دهد. کسی ممکن است علتش را به ممانعت فضایی ایجادشده توسط گروه‌های متیل قرار گرفته در شیار بزرگ DNA دارای موتیف متصل شونده، نسبت دهد. عامل رونویسی عامل متصل شونده به CCCTC^۱، یک موتیف دارای سیتوزین را شناسایی می‌کند که می‌تواند متیله شود. عامل متصل شونده به CCCTC در سازماندهی کروماتین نقش دارد و با مرزهای کروماتین و عملکرد عایق مرتبط است (بخش ۱-۷-۳ این فصل و فصل پنجم کتاب را ببینید). اتصال عامل متصل شونده به CCCTC به وسیله متیلاسیون DNA مسدود می‌شود که این امر پیامد ژرفی برای ناحیه ژنومی دارد.

مطالعات متیلاسیون DNA در تکوین موش آشکار کرده است که جنین‌های اولیه، بیشتر متیلاسیون DNA خود را در مرحله بلاستوسیت از دست می‌دهند (فصل پنجم کتاب را ببینید). در ابتدا ژنوم‌های گامت‌ها به وسیله متیلاسیون اساسی مشخص می‌شوند که طی مراحل تقسیم قبل از لانه‌گزینی تکوین موش حذف می‌شوند. هردو مکانیزم دمتیلاسیون فعال و غیرفعال (از طریق تکثیر DNA) بررسی شده است. جالب است بدانید که مکانیزم دقیق حذف آنزیمی ۵-متیل سیتوزین از DNA هنوز مشخص نشده است. تصور می‌شود که مسیرهای ترمیم DNA نقش مهمی را ایفا می‌کند؛ زیرا به نظر می‌رسد حذف شیمیایی گروه متیل از ۵-متیل سیتوزین بدون بازکردن حلقه پرمیدین غیرممکن است. این مکانیزم پاک‌کن با مکانیزم‌های پاک‌کردن تغییرات هیستون تفاوت دارد؛ بنابراین متیلاسیون DNA یک علامت اپی ژنتیکی به نسبت پایدار در نظر گرفته می‌شود.

^۱. CCCTC-binding factor (CTCF)

کادر ۱-۲. بررسی تغییرات DNA

متیلاسیون DNA به روش‌های مختلف می‌تواند نشان داده شود. اندونوکلازهای محدودکنندهٔ باکتری‌ها که با متیلاسیون سیتوزین مهار می‌شوند برای تخریب DNA ژنومی می‌تواند استفاده شود. جداسازی با الکتروفورز و هیبریداسیون با کاوشگرهای مکمل (سادرین بلات) مشخص کرد، وزن مولکولی DNA غیرمتیله پایین‌تر از DNA متیله‌شده‌ای است که بدون تخریب می‌ماند. PCR با آغازگرهای ویژهٔ ژن نیز برای نشان دادن DNA متیله‌شده می‌تواند استفاده شود. وقتی که اندونوکلاز الگوی متیله نشده را برش می‌دهد، هیچ محصول PCR به دست نمی‌آید. کنترل‌های مناسب مورد نیاز است؛ زیرا تفسیر به کامل بودن واکنش آنزیمی بستگی دارد. با استفاده از آنزیم‌های محدودکننده که توالی یکسانی را شناسایی می‌کنند، ولی توسط متیلاسیون سیتوزین مهار نمی‌شوند قابلیت تخریب DNA را می‌توان تأیید کرد. هموفیلوس پاران/مفلوانز^۱ و پروتئین سطحی مروزوئیت^۲ توالی CCGG را شناسایی می‌کنند ولی فقط هموفیلوس پاران/مفلوانز^۳ II به وسیلهٔ توالی C5mCGG مهار می‌شود.

۵- متیل سیتوزین نیز می‌تواند با آنتی‌بادی‌ها مشخص شود. مشابه آزمایش رسوب ایمنی، DNA متیله‌شده با استفاده از آنتی‌بادی‌های اختصاصی ۵-متیل سیتوزین رسوب داده می‌شود و سپس به وسیلهٔ طیفی از تکنیک‌ها نظیر دات بلات، PCR و تعیین توالی می‌تواند بررسی شود. آنتی‌سرم‌های مشابهی برای ۵-متیل سیتوزین توسعه داده شده است. این آنتی‌سرم‌ها بیشتر برای رنگ‌آمیزی ایمونوفلوروسانس برای مشاهدهٔ توزیع تغییرات DNA در بافت‌ها و سلول‌ها با تکنیک‌های میکروسکوپی استفاده شده‌اند.

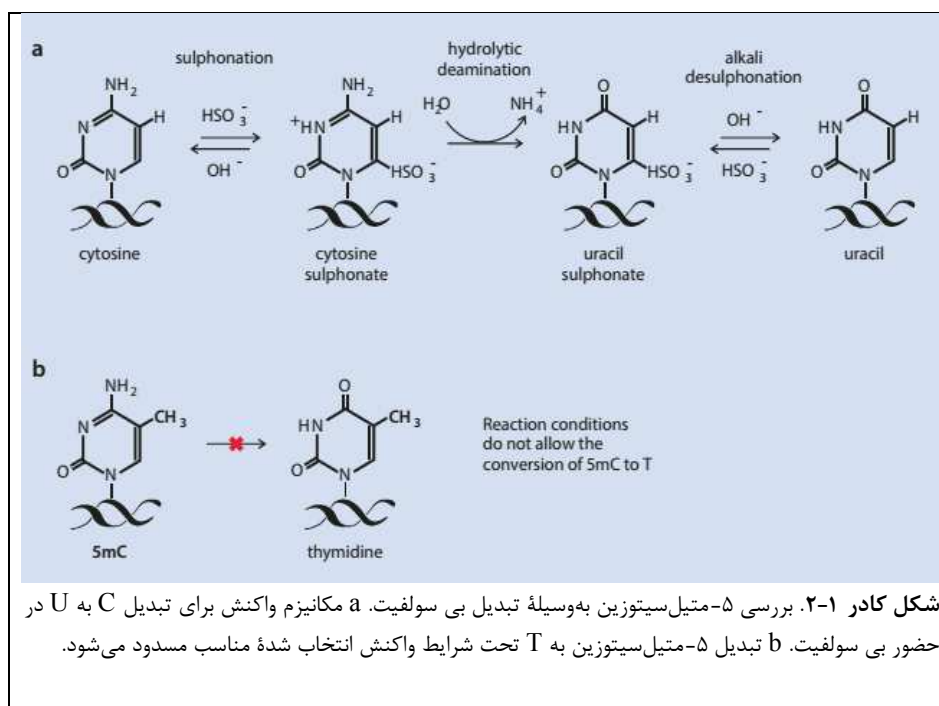
تبدیل بی سولفیت اجازه می‌دهد تا متیلاسیون DNA با وضوح تک باز را بررسی کنیم. گرم کردن DNA در حضور بی سولفیت منجر به دآمیناسیون C و تبدیل آن به اوراسیل می‌شود (شکل ۱-۲). تحت شرایط واکنش مناسب، تبدیل ۵-متیل سیتوزین مشاهده نمی‌شود؛ بنابراین سیتوزین بدون تغییر باقی می‌ماند. تعیین توالی DNA تبدیل‌شده، سیتوزین‌های غیرمتیله را به صورت تیمین نشان می‌دهد، به طوری که به وسیلهٔ مقایسه با توالی مرجع متیلاسیون می‌تواند شناسایی شود.

اخیراً، تعیین توالی منفذ نانو^۳ و طیف‌سنجی جرمی نیز برای شناسایی و کمی کردن تغییرات DNA به کار برده شده است.

^۱. Haemophilus parainfluenzae (*HpaII*)

^۲. Merozoite surface protein 1 (*Msp1*)

^۳. Nanopore



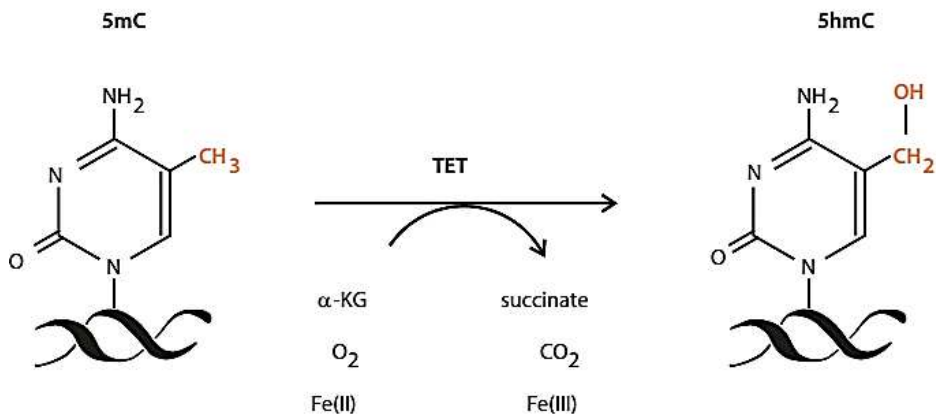
شکل کادر ۲-۱. بررسی ۵-متیل سیتوزین به وسیله تبدیل بی سولفیت. a مکانیزم واکنش برای تبدیل C به U در حضور بی سولفیت. b تبدیل ۵-متیل سیتوزین به T تحت شرایط واکنش انتخاب شده مناسب مسدود می شود.

۲-۴-۱- هیدروکسی متیلاسیون سیتوزین DNA

یک پیشرفت اساسی در شناخت متیلاسیون DNA در ژنوم حیوانات از کشف خانواده آنزیم‌ها به دست آمده که تبدیل ۵-متیل سیتوزین در DNA را انجام می دهد. خانواده پروتئین‌های جابه‌جایی ۱۰-۱۱ در موش سه عضو دارد که عبارت‌اند از: جابه‌جایی ۱۰-۱۱ نوع ۱، جابه‌جایی ۱۰-۱۱ نوع ۲، جابه‌جایی ۱۰-۱۱ نوع ۳. این پروتئین‌ها دی‌اکسیژنازهای وابسته به آلفا - کتوگلو تارات و آهن هستند که از اکسیژن مولکولی برای اکسید کردن گروه متیل ۵-متیل سیتوزین استفاده می کنند (۹-۱). اولین محصول این اکسیداسیون ۵- هیدروکسی متیل سیتوزین است. اکسیداسیون بیشتر، ۵- هیدروکسی متیل سیتوزین را به ۵-فرمیل سیتوزین و ۵- کربوکسی سیتوزین تبدیل می کند. پیشنهاد شده است که شناسایی و حذف این محصولات اکسیداسیون می تواند با ماشین ترمیم DNA برش دهنده باز، مکانیزمی برای دِمِتیلاسیون فعال DNA باشد. برای نقش‌های اضافی جهت تغییرات مختلف سیتوزین در تنظیم ژن، سازماندهی نوکلئوزوم‌ها و تنظیم تغییرات هیستون پیشنهاد شده است. نکته مهم این است که بدانیم سوپسترای تولید هریک از این تغییرات، ۵-متیل سیتوزین است؛ بنابراین DNA متیل ترانسفراز مورد نیاز است.

¹. Ten eleven translocation (TET)

وابستگی برخی از تغییرات به واکنش‌های قبلی جالب است زیرا تنظیم پیچیده‌تر اطلاعات اپی‌ژنتیکی مشابه دروازه AND در منطق بولی ممکن است ایجاد شود. ولی در حال حاضر مشخص نیست که این جنبه در سلول‌ها استفاده می‌شود یا خیر. همچنین محدودیت‌هایی برای سیستم‌های تغییرات DNA، ناشی از این مشاهده است که متیلاسیون DNA در برخی از جانداران (سی‌الگانس و مگس سرکه) غیرضروری است، این موضوع نشان می‌دهد که فرایندهای مهم تکاملی به‌شدت وابسته آن نیستند.



شکل ۹-۱: تبدیل ۵-متیل‌سیتوزین به ۵-هیدروکسی‌سیتوزین به‌وسیله دی‌اکسیژنازهای جابه‌جایی ۱۰-۱۱. آنزیم‌های جابه‌جایی ۱۰-۱۱ از اکسیژن برای هیدروکسیله کردن گروه متیل ۵-متیل‌سیتوزین استفاده می‌کنند. این واکنش به آهن حالت اکسیداسیون Fe^{2+} نیاز دارد و منجر به کربوکسیلاسیون آلفا-کتوگوتارات به سوکسینات می‌شود.

جابه‌جایی ۱۰-۱۱ نوع ۱ در ابتدا به خاطر شکست و جابه‌جایی کروموزومی (کروموزوم‌های ۱۰ و ۱۱) مرتبط با سرطان خون کشف شد و به نام جابه‌جایی ۱۰-۱۱ نام‌گذاری شد. موتاسیون جابه‌جایی ۱۰-۱۱ نوع ۲ در موش‌ها منجر به تمایز نابهنجار سلول خونی و فنوتیپ شبیه لوکمی شد (فصل هشتم را ببینید). این مشاهدات نقش دی‌اکسیژنازهای جابه‌جایی ۱۰-۱۱ در تنظیم بیان ژن طی تمایز سلول را نشان می‌دهد. عملکرد جابه‌جایی ۱۰-۱۱ نوع ۳ به دِمتیلاسیون ژنوم در جنین‌های موش قبل از لانه‌گزینی مرتبط است. جابه‌جایی ۱۰-۱۱ نوع ۳ در اووسیت به‌عنوان پروتئین با منشأ مادری وجود دارد. بعد از لقاح، جابه‌جایی ۱۰-۱۱ نوع ۳، ۵-متیل‌سیتوزین ژنوم پدری یعنی ژنوم به‌دست آمده از اسپرم را به ۵-هیدروکسی‌سیتوزین تبدیل می‌کند. در مقابل ژنوم مادری حفاظت می‌شود و ۵-متیل‌سیتوزین در زیگوت حفظ می‌شود. این امر منجر به علامت‌گذاری افتراقی کروموزوم‌های مادری و پدری به ترتیب با ۵-متیل‌سیتوزین و ۵-هیدروکسی‌سیتوزین می‌شود. اگر چه تفاوتها از

طریق فرایند دِمِتیلاسیون غیرفعال بعدی طی تقسیم جنینی حذف می شود ولی مهم است توجه داشته باشیم که علامت گذاری با منشأ والد در اصل در کل ژنوم است. شگفت آور است که تنها تعداد کمی از ژن های نشانه گذاری شده اطلاعات منشأ والدشان را در تمام مدت تکوین حفظ می کنند.

۱-۴-۳- برهم کنش تغییرات هیستون و DNA

در اولین نگاه، درک تعداد زیادی از تغییرات کروماتین ممکن است ترسناک به نظر برسد. از نظر مفهومی مشاهده تغییرات مختلف در موقعیت عملکردهای زیستی آنها می تواند سودمند باشد؛ بنابراین تغییرات یکسان کروماتین ممکن است توسط آنزیم های مختلف ایجاد شود و در مسیرهای مختلف مولکولی مشارکت داشته باشد. با مطالعات بیوشیمیایی دمین های شناسایی شده است که تغییرات کروماتین خاص را تشخیص می دهند؛ بنابراین اگر دمین های متصل شونده بخشی از آنزیم ها باشند امکان پیش بینی تغییرات پی در پی را فراهم می کنند. تعدادی قوانین برای پیش بینی و توصیف عملکرد و ترکیب حالت های مختلف کروماتین می تواند در نظر گرفته شود.

به نظر می رسد DNA غنی از CG توسط کمپلکس های گروه پلی کومب که H3K27me3 و H2AK119ub را ایجاد می کنند، شناسایی می شود. متیلاسیون سیتوزین جزایر CpG از به کارگیری DNA غنی از CG جلوگیری می کند که این امر نشان دهنده حالت آنتاگونیستی بین متیلاسیون DNA و پروتئین های گروه پلی کومب است. نشان داده شده که H3K27me3 همراه با H3K4me3 که پروموتورها را علامت گذاری می کند، وجود دارد. کروماتین علامت گذاری شده مضاعف H3K27me3 و H3K4me3 به عنوان حمل کننده علامت دوطرفیتی در نظر گرفته می شود که حالتی دوجبهی بین فعال و غیرفعال دارد. با این حال، پروموتورهای فعال روی H3K27 استیل می شود و H3K27ac و H3K27me3 دقیقاً روی همان لیزین نمی توانند باهم حضور داشته باشند. این منطق یک مرحله بالقوه برای فعال سازی با مسدود کردن فعالیت گروه پلی کومب از طریق H3K27ac را پیشنهاد می کند (فصل سوم را ببینید).

قابل توجه است که به نظر نمی رسد H3K9me3 همراه با H3K4me3 اتفاق بیافتد به طوری که یک ضد همبستگی قوی بین آنها مشاهده می شود. همان طور که قبلاً در این فصل دیدیم در هتروکروماتین پیرامون سانترومری H3K9me3 با H4K20me3 جفت می شود. علاوه بر این، H3K9me3 با H3K4me1 همبستگی دارد. جلوگیری از متیلاسیون لیزین شماره ۴ هیستون H3، باعث متیلاسیون / آغاز DNA می شود. نشان داده شده که همه DNA متیل ترانسفرازهای پستانداران زمانی که H3K4 تغییر داده نشده به آن متصل می شوند. این اتصال منجر به تغییرات ساختمانی می شود که فعالیت DNA متیل ترانسفراز از آغاز را فعال می کند. علاوه بر این، DNA متیل ترانسفراز 3A و DNA متیل ترانسفراز 3B به H3K36me2 و H3K36me3 که مرتبط با جسم

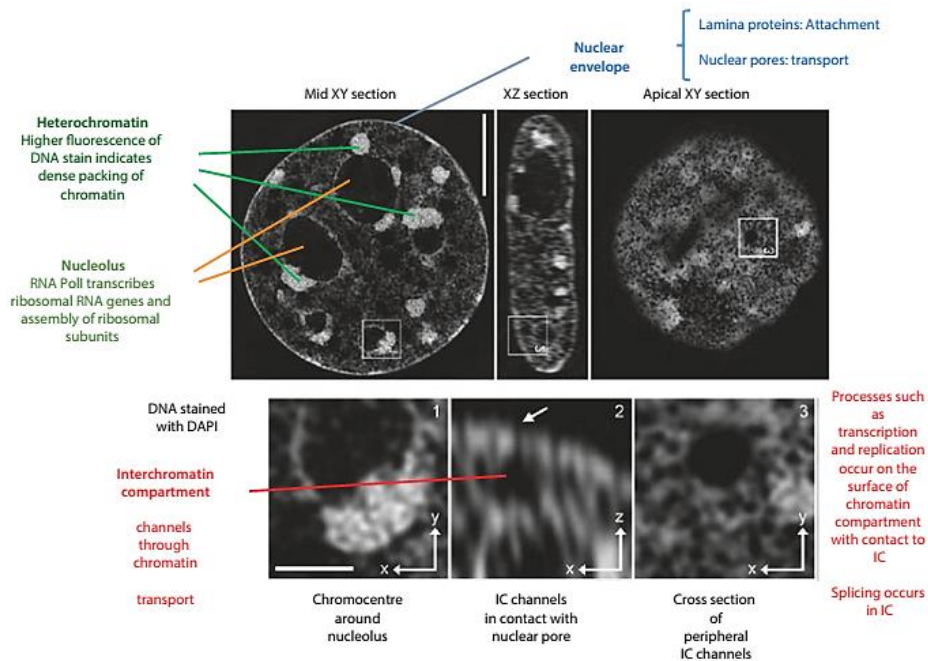
ژنی ژن‌های فعال هستند، متصل می‌شوند. تصور می‌شود که متیلاسیون DNA در واحد رونویسی به جلوگیری از آغاز رونویسی کاذب کمک می‌کند در نتیجه اختلال رونویسی را کاهش می‌دهد. بدون شک مطالعات آینده، درک ما از مسیرهای عملکردی در کروماتین را باید گسترش دهند ولی حفظ چند قانون کلی در ذهن برای ارزیابی داده‌های اپی‌ژنومیک و کشف کردن ارتباط زیستی آن مفید است.

۵-۱- سازماندهی کروماتین و بخش بندی در هسته سلول

در این فصل نگاهی به کروماتین انداخته و ویژگی‌های مولکولی را شناسایی کرده‌ایم که اطلاعات اپی‌ژنتیک را در طول توالی DNA می‌توانند حمل کنند. این امر منجر به مشاهده ساختار بسیار عملکردی کروماتین شده است. این فصل را با بررسی مختصر نحوه آرایش کروماتین در هسته سلول به پایان می‌رسانیم. این جنبه زمانی اهمیت پیدا می‌کند که بخواهیم تعداد زیادی از نوکلئوزوم‌ها را که ژنوم یک حیوان را دربرمی‌گیرند، بررسی کنیم. در مورد ژنوم دیپلوئید انسان، بالغ بر ۴۰ میلیون نوکلئوزوم باید سرهم‌بندی شود. این موضوع دلالت بر چگونگی شناسایی ژن‌ها و چگونگی اتصال عوامل رونویسی به مکان‌های شناسایی‌شان دارد. انتقال تنها موضوع نیست. کمپلکس RNA پلیمراز II که بیشتر mRNA ها را رونویسی می‌کند، روی رشته DNA نیرو اعمال می‌کند. رونویسی حدود ۱۰۰۰۰ ژن در یک سلول منجر به حرکت بیش‌ازحد در داخل هسته می‌شود. مشاهدات با میکروسکوپ نشان می‌دهد که کروماتین توزیع به‌نسبت پایدار را حفظ می‌کند. کانون‌های مجزا از هتروکروماتین پیرامون سانترومری که به‌نظر می‌رسد با کروماتین مشابه در کنار هم قرار می‌گیرند، مشاهده می‌شوند. همچنین به‌نظر می‌رسد کروموزوم‌ها حجم‌های جداگانه‌ای را در هسته سلول اشغال می‌کنند که به آن قلمروهای کروموزومی گفته می‌شود. اگرچه قلمروهای کروموزوم مختلف در تماس نزدیک هستند ولی ترکیب خیلی کمی از قسمت عمده DNA از کروموزوم‌های مختلف وجود دارد. این مشاهدات شواهدی را پایه‌ریزی می‌کند که رشته کروماتین محدود می‌شود و مکانیزم‌هایی وجود دارد که هسته را بخش‌بندی می‌کند.

تصاویر میکروسکوپی از هسته‌های رنگ‌آمیزی شده DNA، هستک‌ها را به‌عنوان ساختارهای مهم نشان می‌دهد (شکل ۱-۱۰). هستک‌ها، مکان‌هایی هستند که RNA ریبوزومی به‌وسیله RNA پلیمراز I رونویسی می‌شود و سرهم‌بندی زیرواحدهای ریبوزومی در آنجا اتفاق می‌افتد. هستک‌ها در مراحل مختلف سرهم‌بندی دارای RNA و ریبوزوم‌ها هستند. از آنجایی که دارای DNA کمی هستند، در رنگ‌آمیزی، هستک‌ها شدت رنگ ضعیفی با رنگ‌های DNA نشان می‌دهند و در زیر میکروسکوپ تیره به‌نظر می‌رسند. هستک‌ها با حاشیه‌ای از هتروکروماتین به نام هتروکروماتین پیرامون هسته‌ای محدود می‌شوند. در سراسر هسته، رنگ‌آمیزی DNA با درخشندگی متفاوت متناظر با چگالی

نوکلئوزوم توزیع می‌شود. به نحو چشمگیری سوراخ‌های کوچکی در سراسر رنگ‌آمیزی DNA ظاهر می‌شوند. این سوراخ‌ها کانال‌هایی در کروماتین هستند که تصور می‌شود امکان دسترسی عوامل به ژن‌ها و انتقال رونوشت‌ها را فراهم می‌کند (مارکاکس و همکاران، ۲۰۱۲). اتصال این کانال‌ها به منافذ هسته‌ای در تصویرها با وضوح بالا مشاهده شده است و نشان می‌دهد چگونه mRNA ها ممکن است از داخل هسته صادر شوند. کانال‌ها و سوراخ‌های داخل کروماتین به عنوان بخش بین کروماتین یاد می‌شوند.^۱ در مجموع این مشاهدات نشان می‌دهند که فرایندها ممکن است در سطح کروماتین با دسترسی به عامل اتفاق بیافتد و انتقال وابسته به بخش بین کروماتین باشد.



شکل ۱-۱۰: سازماندهی هسته سلول. تصاویر میکروسکوپی با وضوح بالای هسته سلول با بخش‌ها و ساختارهای برجسته توضیح داده شده است.

^۱. Interchromatin compartment (IC).

۱-۵-۱- همانندسازی دمین‌های هتروکروماتین پیرامون سانترومری

استفاده از هیبریداسیون در مکان اصلی سه‌بعدی فلوروسنت^۱ با کاوشگرهای DNA مکمل، همبستگی زیر دمین‌های هسته‌ای با توالی‌های تکراری را امکان‌پذیر می‌سازد. کاوشگرهای DNA نشان‌دار با فلورسنت برای مشخص کردن DNA تکراری ماهواره‌ای بزرگ و کوچک نواحی پیرامون سانترومری در هسته‌های فیکس شده، می‌تواند استفاده شود. این آماده‌سازی‌ها با استفاده از آنتی‌بادی علیه تغییرات هیستون، بیش از این می‌تواند رنگ‌آمیزی شود. از چنین آزمایش‌هایی می‌توان نتیجه گرفت که تکرارهای پیرامون سانترومری در دمین‌های کروماتینی سازماندهی می‌شوند که به‌طور همگن به‌وسیله آنتی‌سرم H3K9me3 رنگ‌آمیزی می‌شوند؛ بنابراین مطالعه میکروسکوپی نشان داد که هتروکروماتین پیرامون سانترومری در واقع با تغییرات هیستون ویژه علامت‌دار می‌شود و با پروتئین‌های خاص مرتبط است، همان‌طور که قبلاً در این فصل بحث شد.

مطالعه میکروسکوپی همچنین برای به‌دست‌آوردن شناخت در مورد نحوه رفتار هتروکروماتین طی همانندسازی DNA می‌تواند مفید باشد. DNA تازه ساخته‌شده با گنجاندن نوکلئوتیدهای تغییر داده‌شده نظیر بروموداکسی‌یوریدین^۲ می‌تواند علامت‌گذاری شود که این علامت به‌وسیله آنتی‌سرم خاص می‌تواند قابل مشاهده باشد. تکثیر تکرارهای پیرامون سانترومری به‌نظر می‌رسد در خارج از محدوده دمین هتروکروماتین اتفاق می‌افتد. سپس DNA تکثیرشده دوباره با دمین هتروکروماتین مرتبط می‌شود؛ همان‌طور که قبلاً دیده‌ایم، هتروکروماتین‌های پیرامون سانترومری آنزیم‌هایی که تغییرات هیستون را کاتالیز می‌کنند، به‌کار می‌گیرد؛ بنابراین منطقی است پیش‌بینی کنیم که هیستون‌های تازه قرار داده شده روی DNA تکثیرشده با فعالیت‌های تغییردهنده هیستون که مستقر در هتروکروماتین پیرامون سانترومری هستند، هدف قرار داده می‌شوند. بازگرداندن علامت‌های مختص کروماتین طی فاز S انجام می‌شود و کروموزوم‌ها با تکرارهای پیرامون سانترومری به‌دقت علامت‌دار شده، سپس در میتوز می‌تواند جدا شود؛ بنابراین خودتجمعی هتروکروماتین‌های پیرامون سانترومری به‌عنوان مبنای مکانیکی وراثت‌پذیری تغییرات هیستون می‌تواند در نظر گرفته شود. اگرچه این مدل قابل قبول است ولی احتمالاً وضعیت پیچیده‌تر است. اولاً تکرارهای پیرامون سانترومری نیز در معرض متیلاسیون DNA هستند بنابراین برهم‌کنش‌های اضافی برای درک مکانیزم ممکن است در نظر گرفته شود. ثانیاً در حال حاضر مشخص نیست که چگونه خودتجمعی کروماتین پیرامون سانترومری میانجی‌گری می‌شود و چگونه از کروماتین همسایه می‌تواند جدا شود. آیا این اتفاق یک ویژگی ذاتی تغییرات کروماتین می‌تواند باشد؟ آیا پروتئین‌های اتصال‌ی خاص H3K9me3، با مکانیزم‌های اتصال‌ی تعاونی، خود تجمعی را میانجی‌گری می‌کنند؟ به‌طور بالقوه،

^۱. Fluorescent *in situ* hybridization (FISH)

^۲. Bromo-deoxyuridine (BrdU)

عوامل اضافی در این فرایند می‌تواند نقش داشته باشد (فصل سوم کتاب را ببینید). لنگر انداختن کروماتین در ساختارهای غیر کروماتین نظیر ماتریکس هسته‌ای یا داربست هسته‌ای پیشنهاد شده است. با این وصف اجزای این ساختارها به لحاظ مفهومی قابل قبول باقی می‌ماند تا آشکار شود.

۱-۵-۲- ارتباط توپولوژیکی دمین‌ها

در تصاویر میکروسکوپ با وضوح بالا که جزئیات ۱۰۰-۳۰ نانومتر را مشخص می‌کند، یک وکسل^۱ تکی بین ۳۰ و ۱۰۰ نوکلئوزوم را نشان می‌دهد؛ بنابراین بررسی با میکروسکوپ مقیاس متفاوتی از درک مولکولی ما از عناصر تنظیمی است. یک آغازگر معمولی به طول ۱ کیلوباز در ۷ نوکلئوزوم سرهم بندی می‌شود. برای پل زدن روی این شکاف، روش‌های جدید توسعه داده شده است. هدف تکنیک های ربایش کنفورماسیون کروماتین^۲ (3C to HiC) شناسایی قطعات DNA است که در هسته در همسایگی یکدیگر قرار دارند ولی ممکن است در توالی خطی DNA از هم دور باشند. این روش تماس‌های DNA را با ایجاد پیوند متقابل با کروماتین وقتی که آن در حالت طبیعی در سلول است، حفظ می‌کند (جعبه ۱-۳). پس از آن کروماتین با آنزیم‌های محدودکننده برش داده می‌شود. اتصال انتهای DNA بریده‌شده در شرایط بسیار رقیق، قطعات DNA کایمیریک را ایجاد می‌کند. قطعات DNA که غالباً در هسته در همسایگی هم قرار گرفته‌اند، احتمال بیشتری برای ایجاد پیوند متقابل در همان ذره کروماتین دارند؛ بنابراین تعداد زیادی از قطعات کایمیریک را نشان می‌دهند. تعیین توالی محصولات متصل‌شده و رسم نمودار تعداد قطعات DNA کایمیریک در مقابل فاصله آن‌ها در توالی DNA، تخمین فراوانی تماس را به ما نشان می‌دهد. با استفاده از این رویکرد، توپولوژی سه بعدی *in vivo* کروموزوم‌ها بررسی شده است.

با این مطالعات آشکار شد که کروموزوم‌ها از دمین‌های برهم‌کنش‌کننده کروماتین ساخته شده اند که با مرزهایی بین آن‌ها تقسیم بندی می‌شوند. به فواصل با فراوانی زیاد تماس داخلی، ارتباط توپولوژیکی دمین‌ها^۳ می‌گویند (جعبه ۱-۳). اگرچه ارتباط توپولوژیکی دمین‌ها ممکن است عناصر تنظیمی را به اشتراک بگذارد و با هم تنظیم شوند، ولی نکته مهم این است که با تکنیک‌های 3C و تکنیک‌های مرتبط با آن، معمولاً تعداد زیادی (از چند هزار تا میلیون) از سلول‌ها را بررسی می‌کنند؛ بنابراین تنها میانگین‌ها مشاهده می‌شود. همیشه مشخص نیست که آیا در یک سلول معین در یک زمان خاص همه تماس‌ها انجام می‌شود یا خیر. تکنیک‌های 3C برای شناسایی عناصر تنظیمی ژن

^۱. یک وکسل (Voxel) نشان‌دهنده کوچکترین حجمی است؛ که در یک تصویر سه بعدی می‌تواند مشخص شود وکسل در قیاس با یک پیکسل تعریف شده است؛ که نشان دهنده یک نقطه از یک تصویر دو بعدی است.

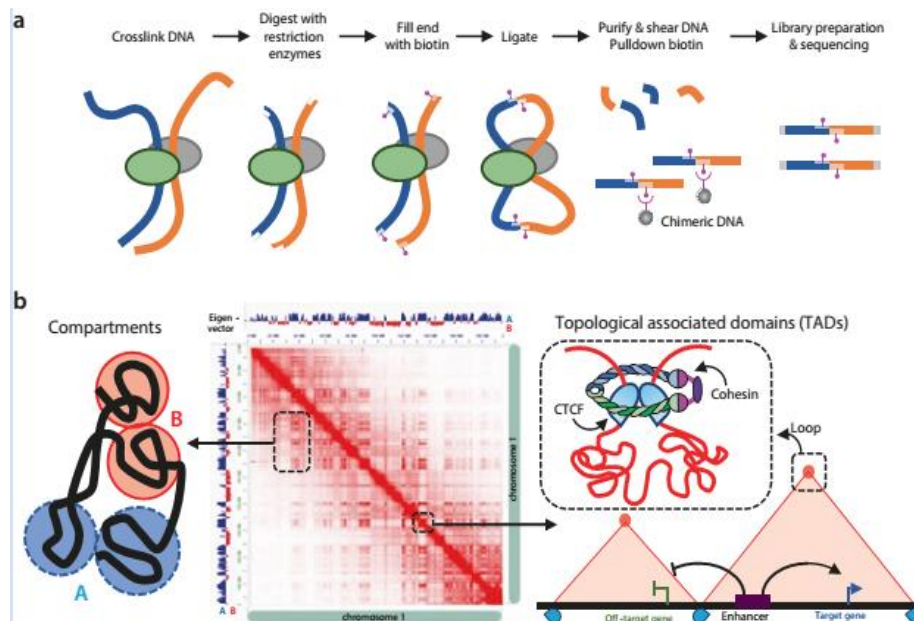
^۲. Chromatin conformation capture techniques

^۳. Topologically associating domains (TADs)

نظیر تشدیدکننده‌ها که در فواصل دور از پروموتورهای خود قرار گرفته‌اند ولی فراوانی بالایی از تماس را نشان می‌دهند، بسیار موفق بوده‌است؛ بنابراین داده‌های آرایش کروماتین برای تعیین برهم‌کنش‌های تنظیمی و احتمالاً برای شناسایی ژن‌هایی که به‌وسیلهٔ عناصر تنظیمی سیس معین باهم تنظیم می‌شوند، مفید است. اخیراً تکنیک‌های مبتنی بر ربایش کنفورماسیون کروماتین برای بررسی سلول تکی توسعه داده شده است. این مطالعه به درک ما از سازماندهی کروماتین کمک کرده است. در مطالعه‌ای که از سلول‌های فاز G1 برای تعیین بدون ابهام تماس‌های توالی DNA استفاده شد، مشخص شد که همهٔ سلول‌ها یک آرایش زیرهسته‌ای عمومی را برگزیده‌اند (استونز و همکاران، ۲۰۱۷).

قسمت‌های A عمدتاً از توالی‌هایی تشکیل شده‌اند که مرتبط با علائم کروماتین فعال هستند؛ این قسمت‌های A را از قسمت‌های B که عمدتاً شامل کروماتین غیرفعال است و اغلب پیرامون هسته قرار دارد می‌توان متمایز کرد. پیچ‌وتاب خوردن و هندسهٔ رشتهٔ کروماتین در هر سلول متفاوت است؛ بنابراین کروماتین در هسته در کوچکترین مقیاس به‌طور تصادفی توزیع می‌شود، ولی با افزایش مقیاس، جبری‌تر توزیع می‌شود. یک مکانیزم بالقوه برای چنین توپولوژی به‌عنوان خودسازماندهی موضعی کروماتین پیشنهاد شده است که به موجب آن عناصر فعال محلی بر ساختار کروماتین نزدیک خود اثر می‌گذارند. سپس فعالیت تلفیق شدهٔ تعدادی از عناصر منجر به توپولوژی مشاهده‌شده، می‌شود.

کادر ۱-۳: ربایش آرایش کروماتین



شکل کادر ۱-۳: ربایش کنفورماسیون کروماتین. a سازماندهی سه بعدی کروماتین با اتصال عرضی کمپلکس‌های پروتئینی و DNA با فرمالدهید حفظ می‌شود. سپس DNA به وسیله نوکلئاز به قطعات کوتاه شکسته می‌شود. اتصال انتهای DNA قطعاتی که پیوند عرضی دارند، ربایش برهم‌کنش‌های بین توالی‌هایی که در توالی خطی ژنوم دور از هم هستند ولی در هسته در نزدیکی هم قرار می‌گیرند را تسهیل می‌کند. تعیین توالی محصولات متصل شده و بررسی فراوانی DNA کایمریک برای محاسبه فراوانی برهم‌کنش بین نواحی ژنومی دور می‌تواند استفاده شود. b سازماندهی قسمت‌های کروماتین در هسته (سمت چپ) از فراوانی‌های برهم‌کنش می‌تواند استنتاج شود. ماتریسی از فراوانی‌های برهم‌کنشی با کدرنگی (وسط) برهم‌کنش توالی‌ها در ژنوم را می‌تواند به تصویر بکشد. خط مورب که از سمت بالا (چپ) به سمت پایین (راست) کشیده می‌شود نشان‌دهنده برهم‌کنش‌های نواحی‌ای است که در توالی DNA در نزدیکی هم هستند؛ بنابراین به وسیله استخوان‌بندی DNA (قند - باز) به دقت متصل هستند. ارتباط توپولوژیک دمین‌ها (راست) به وسیله مرزهایی محصور می‌شوند که برهم‌کنش‌ها را محدود می‌کنند. فراوانی‌های زیادی از برهم‌کنش‌ها در ارتباط توپولوژیک دمین‌ها و برهم‌کنش‌های کم در بیرون از ارتباط توپولوژیک دمین‌ها مشاهده می‌شود. کمپلکس‌های کوهسین^۱ با مرزهای ارتباط توپولوژیک دمین مرتبط هستند. نمایشی از قسمت‌های A و B نیز نشان داده شده است.

^۱. Cohesin complexes

۱-۵-۳- حفظ ساختاری کمپلکس‌های کروموزوم‌ها

ارتباط تشدیدکننده‌ها با پروموتورهای ژن و سازماندهی ارتباط توپولوژیک دمین‌ها، احتمال وقوع مکانیزم‌هایی را افزایش می‌دهد که پیچ‌وتاب خوردن و خم‌شدن رشته کروماتین برای دستیابی به توپولوژی مشاهده‌شده را تسهیل می‌کند. این موضوع یک پرسش دیرینه بوده که سال‌های متعددی پاسخ دادن به آن دشوار به‌نظر می‌رسید. شواهد اخیر، یک مکانیزم قدرتمند و شگفت‌انگیز را نشان می‌دهد که کمپلکس‌های پروتئین در حفظ ساختاری کروموزوم‌ها^۱ نقش دارند. پروتئین‌های حفظ ساختاری کروموزوم‌ها با کروماتین مرتبط هستند و نقش‌های مهمی در تراکم کروموزوم و جداسازی آن طی میتوز دارند. دو کمپلکس متمایز حفظ ساختاری کروموزوم‌ها شناسایی شده است که کمپلکس‌های کوهسین و کاندنسن^۲ نامیده می‌شوند و به‌ترتیب عملکردشان میانجی‌گری اتصال کروماتید خواهری و متراکم کردن کروموزوم‌های میتوزی است. پروتئین‌های حفظ ساختاری کروموزوم‌ها دارای دمین‌های ATPase هستند که ATP را برای اعمال عملکرد حرکتی می‌توانند هیدرولیز کنند. کمپلکس‌های کاندنسن نوترکیب بازسازی‌شده (شامل SMC3 و SMC1) توانایی القای تغییرات را در توپولوژی مولکول‌های DNA نشان داده‌شده با فلورسنت دارند. این مشاهدات در سنجش‌های بیوشیمیایی مبتنی بر میکروسکوپ پیشرفته انجام شده است. وقتی که قطعات DNA در شرایط مساعد با کمپلکس‌های کاندنسن و ATP قرار داده می‌شوند، حلقه‌های DNA تشکیل می‌شود. عملکرد مشابهی متعاقباً برای کمپلکس کوهسین انسانی نوترکیب (شامل SMC2 و SMC4) زمانی که عوامل اضافی مرتبط با کوهسین حضور داشتند، مشاهده شده است (کیم و همکاران، ۲۰۱۹). این آزمایشات نشان می‌دهد که خانواده پروتئین‌های حفظ ساختاری کروموزوم‌ها تنظیم‌کننده‌های مهم توپولوژی کروماتین هستند.

کوهسین در چرخه سلولی نقش دارد، آن‌ها در اتصال کروماتیدهای خواهری بعد از تکثیر DNA کروموزومی تا جداسازی در میتوز پادرمیانی می‌کنند؛ علاوه‌براین، کوهسین در تنظیم ژن نیز نقش دارد. کوهسین‌ها روی کروماتین در اینترفاز بارگذاری می‌شوند و احتمالاً می‌توانند در طول رشته کروماتین سر بخورند و واسطه ایجاد حلقه شوند. برخی از حلقه‌های کروماتین به حضور مکان‌های عامل متصل‌شونده به CCCTC در باز حلقه، همبسته هستند (جعبه ۱-۳).

عامل متصل‌شونده به CCCTC به توالی‌هایی متصل می‌شوند که نامتقارن‌اند و بنابراین جهت گیری دارند. مکان‌های عامل متصل‌شونده به CCCTC در باز حلقه‌های کروماتین به سمت همدیگر جهت گیری می‌شوند، این موضوع نشان می‌دهد که عامل متصل‌شونده به CCCTC ممکن است به شیوه جهت‌دار برای مسدودکردن سرخوردن کوهسین عمل کند. تعدادی از حدودمرزهای ارتباط

^۱. Structural Maintenance of chromosomes (SMC)

^۲. Condensin complexes

توپولوژیکی دمین با مکان‌های اتصال عامل متصل‌شونده به CCCTC می‌توانند همبسته باشند. علاوه‌براین، مولکول‌های دیگر نیز در جاگیری کوهسین‌ها و احتمالاً کمپلکس‌های دیگر حفظ ساختاری کروموزوم‌ها مشارکت دارند؛ بنابراین، کشف اخیر عملکرد حرکتی DNA کمپلکس‌های حفظ ساختاری کروموزوم‌ها یک مکانیزم اساسی را برای تأسیس توپولوژی DNA در مقیاس بزرگ تر، پیشنهاد می‌کند که مطمئناً کماکان در آینده توجه را به خود جلب خواهد کرد (بانینگان و می‌رنی ۲۰۲۰).

پیام کلی این فصل که باید به خاطر سپرد.

- کروماتین، ژنوم سلول‌های یوکاریوتی را در ساختار نوکلئوزومی سازماندهی می‌کند که تحمیل اطلاعات اپی ژنتیکی را تسهیل و به تنظیم توالی DNA کمک می‌کند.
- ساختار نوکلئوزومی از طریق انواع هیستون، تغییرات پس از ترجمه هیستون و تغییرات DNA که به صورت ترکیبی و هم افزایی عمل می‌کنند، می‌تواند تغییر داده شود.
- آنزیم‌های ویژه که تغییرات هیستون را ایجاد می‌کنند، می‌توانند نویسندگان اطلاعات اپی ژنتیک در نظر گرفته شوند. برعکس خوانندگان، پروتئین‌هایی با تمایل به علائم هیستون هستند که می‌توانند کمپلکس‌های پروتئینی با عملکردهای اضافی را برای کروماتین به خدمت بگیرند. پاک‌کن‌ها آنزیم‌هایی هستند که علائم کروماتین را حذف می‌کنند و بنابراین تضمین می‌کنند که اطلاعات اپی ژنتیک برگشت پذیر است.
- تاخوردن DNA خطی در هسته، قسمت‌بندی کروماتین به صورت دمین‌هایی با ویژگی عملکردی مختلف را تسهیل می‌کند.
- کروموزوم‌ها به صورت تصادفی توزیع نمی‌شوند ولی در حجم‌های مجزا به نام قلمروهای کروموزومی سازماندهی می‌شوند که به موجب آن می‌تواند جداسازی قسمت‌های فعال A و سرکوب‌شده B مشاهده شود.
- تغییرات ساختار کروماتین و توپولوژی کروماتین هر دو به ایجاد اطلاعات در امتداد توالی DNA که عملکرد نواحی ژنومی مجزا را تنظیم می‌کند، کمک می‌کنند.
- درک مسیرهای هسته‌ای تنظیم کروماتین مبنایی برای در نظر گرفتن مکانیزم‌های اپی ژنتیک است که در فصل‌های بعدی بیشتر در مورد آن بحث خواهد شد.

منابع

- Banigan EJ, Mirny LA (2020) Loop extrusion: theory meets single-molecule experiments. *Curr Opin Cell Biol* 64:124-138. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.04.011>
- Ganji M, Shaltiel IA, Bisht S, Kim E, Kalichava A, Haering CH, Dekker C (2018) Real-time imaging of DNA loop extrusion by condensin. *Science* 360(6384):102-105. <https://doi.org/10.1126/science.aar7831>
- Guttman M, Amit I, Garber M, French C, Lin MF, Feldser D, Huarte M, Zuk O, Carey BW, Cassady JP, Cabili MN, Jaenisch R, Mikkelsen TS, Jacks T, Hacohen N, Bernstein BE, Kellis M, Regev A, Rinn JL, Lander ES (2009) Chromatin signature reveals over a thousand highly conserved large non-coding RNAs in mammals. *Nature* 458(7235):223-227. <https://doi.org/10.1038/nature07672>
- Guy J, Gan J, Selfridge J, Cobb S, Bird A (2007) Reversal of neurological defects in a mouse model of Rett syndrome. *Science* 315(5815):1143-1147. <https://doi.org/10.1126/science.1138389>
- Hirota T, Lipp JJ, Toh BH, Peters JM (2005) Histone H3 serine 10 phosphorylation by Aurora B causes HP1 dissociation from heterochromatin. *Nature* 438(7071):1176-1180. <https://doi.org/10.1038/nature04254>
- Kim Y, Shi Z, Zhang H, Finkelstein IJ, Yu H (2019) Human cohesin compacts DNA by loop extrusion. *Science* 366(6471):1345-1349. <https://doi.org/10.1126/science.aaz4475>
- Luger K, Mader AW, Richmond RK, Sargent DF, Richmond TJ (1997) Crystal structure of the nucleosome core particle at 2.8 Å resolution. *Nature* 389(6648):251-260. <https://doi.org/10.1038/38444>
- Markaki Y, Smeets D, Fiedler S, Schmid VJ, Schermelleh L, Cremer T, Cremer M (2012) The potential of 3D-FISH and super-resolution structured illumination microscopy for studies of 3D nuclear architecture: 3D structured illumination microscopy of defined chromosomal structures visualized by 3D (immuno)-FISH opens new perspectives for studies of nuclear architecture. *BioEssays* 34(5):412-426. <https://doi.org/10.1002/bies.201100176>
- Olins AL, Olins DE (1974) Spheroid chromatin units (v bodies). *Science* 183(4122):330-332. <https://doi.org/10.1126/science.183.4122.330>
- Schotta G, Lachner M, Sarma K, Ebert A, Sengupta R, Reuter G, Reinberg D, Jenuwein T (2004) A silencing pathway to induce H3-K9 and H4-K20 trimethylation at constitutive heterochromatin. *Genes Dev* 18(11):1251-1262. <https://doi.org/10.1101/gad.300704>
- Stevens TJ, Lando D, Basu S, Atkinson LP, Cao Y, Lee SF, Leeb M, Wohlfahrt KJ, Boucher W, O'Shaughnessy-Kirwan A, Cramard J, Faure AJ, Ralser M, Blanco E, Morey L, Sanso M, Palayret MGS, Lehner B, Di Croce L, Wutz A, Hendrich B, Klenerman D, Laue ED (2017) 3D structures of individual mammalian genomes studied by single-cell Hi-C. *Nature* 544(7648):59-64. <https://doi.org/10.1038/nature21429>

فصل دوم

پویایی کروماتین

مطالبی که در این فصل یاد خواهید گرفت.

هسته یک سلول یوکاریوت مکان خیلی شلوغی است. نه تنها در طول تکثیر DNA بلکه در هر زمان از چرخه سلولی آنزیم‌های خاص برای پردازش واکنش‌هایی نظیر رونویسی و ترمیم DNA، نیاز به دسترسی به اطلاعات ژنتیکی هست. با این حال، ساختار نوکلئوزومی کروماتین اساساً نوعی مهارکننده برای این فرایندها محسوب می‌شود و لازم است به شیوه‌ای کاملاً هماهنگ، این موضوع حل و فصل تا امکان فعالیت‌های هسته‌ای نوع خاص سلول، تکوینی و جانداري فراهم شود. در این فصل توضیح داده می‌شود که چگونه نوکلئوزوم‌ها ژنوم را از طریق برهم‌کنش توالی‌های خاص DNA، سازماندهی و تنظیم می‌کنند. انواع هیستون‌های متعارف، می‌توانند پایداری ساختار نوکلئوزوم را تغییر دهند و همچنین لایه‌های اپی ژنتیکی اضافی اطلاعات را فراهم کنند. کمپلکس‌های بازسازی‌کننده کروماتین به صورت موضعی کار می‌کنند تا سازماندهی منظم دانه‌ها روی یک رشته را تغییر دهند و دسترسی به رونویسی و سایر عوامل پردازش DNA را فراهم کنند. برعکس، عواملی مانند چاپرون‌های هیستون و مکانیزم‌های رونوشت‌کردن و الگوبرداری بسیار دقیق برای سرهم‌بندی مجدد نوکلئوزوم‌ها و تأسیس مجدد چشم انداز اپی ژنتیک بعد از عبور فعالیت‌های پردازش اطلاعات توالی DNA مورد نیاز است. یک ماشین مولکولی بسیار پیچیده، یک الگوی کروماتین بسیار پویا و در عین حال ارثی را تضمین می‌کند.

۱-۲- فعالیت‌های هسته‌ای اساسی

ژنوم یوکاریوتی به صورت ساختمان نوکلئوزومی دانه‌های روی رشته، بسته‌بندی می‌شوند (فصل یک). این ساختار اجازه می‌دهد تا رشته DNA طویل ولی نازک در هسته سلول محافظت، متراکم و سازماندهی شود. به عنوان مثال، بسته‌بندی محکم ژنوم به طور فعال برای سرکوب توالی‌های مضر نظیر عناصر قابل انتقال و رتروویروسی که متحرک می‌شوند، استفاده می‌شود. با این حال، DNA به عنوان یک الگو برای تعدادی از فرایندهای هسته‌ای که نیازمند دسترسی به اطلاعات ژنتیکی و بنابراین یک کنفورماسیون کروماتین هستند، عمل می‌کند. برخی از آنزیم‌های مرتبط به عنوان مثال، از توالی رشته DNA برای انجام دادن کار خود استفاده می‌کنند. با وجود این DNA نوکلئوزومی دورشته‌ای است؛ قبل از اینکه فعالیت‌های هسته‌ای بتواند انجام شود نیاز است رشته DNA از بسته‌بندی هیستون آزاد شود. تعدادی از مکانیزم‌ها برای مقابله با ماهیت عمدتاً سرکوب‌کننده نوکلئوزوم تکامل پیدا کرده‌اند که اجازه فعالیت‌های هسته‌ای پاسخگو و انعطاف‌پذیر را می‌دهند.

یک مثال بارز در این خصوص فرایند رونویسی است. سلول یوکاریوتی سه RNA پلیمراز دارد که به وسیله محصولات RNA که تولید می‌کند، متمایز می‌شوند. شیوه عمل آن‌ها مشابه است؛ گرچه نیاز به اطلاعات توالی ارائه شده به وسیله یک رشته DNA باز برای ساختن مولکول RNA مکمل

دارند (کرامرا، ۲۰۱۹). قبل از آغاز فرایند رونویسی، مکانیزم‌های فعال‌سازی ژن تضمین می‌کند که عوامل رونویسی خاص بتوانند به توالی‌های هدف ویژه‌شان دسترسی داشته باشند، در ضمن به بازسازی ساختار نوکلئوزومی محافظت‌کننده در مکان عمل‌شان مانند تشدیدکننده‌ها نیاز دارند. به‌طور مشابه طی فرایند طولیل‌سازی، کمپلکس RNA پلیمراز با یک ساختار نوکلئوزومی مواجه می‌شود که نه‌تنها برای ساختن رونوشت باید برداشته شود بلکه بعد از عبور به شیوهٔ موافق با اپی‌ژنتیک باید دوباره سرهم‌بندی شود. همهٔ این مراحل در تضاد با برهم‌کنش عمدتاً ایستای DNA و هیستون‌ها هستند و نیازمند ساختار کروماتین پویا است که به پیام‌های خارجی، پردازش آنزیمی و نیروهای مکانیکی پاسخ دهد.

در فرایند همانندسازی DNA، DNA پلیمراز از تکرشتهٔ DNA به‌عنوان الگو استفاده می‌کند تا یک نسخهٔ کامل مادهٔ ژنتیکی تولید کند (هاموند و همکاران، ۲۰۱۷). به این ترتیب، در مکان‌های آغاز یعنی جایی که همانندسازی شروع می‌شود باید نوکلئوزوم‌ها جدا شوند تا امکان اتصال عوامل به DNA فراهم شود و ماشین همانندسازی سرهم‌بندی شود. نوکلئوزوم‌های قبل از چنگال همانندسازی برداشته می‌شوند و دوباره در پشت مکان تکثیر سرهم‌بندی می‌شوند. علاوه‌براین تغییرات هیستون، متیلاسیون DNA و سایر عوامل مرتبط با کروماتین برای حفظ چشم انداز اپی‌ژنتیک دوباره ایجاد می‌شوند. در واقع در محل همانندسازی دو مکانیزم متمایز وراثت اپی‌ژنتیک رخ می‌دهد که ما یکی از آن‌ها را به خوبی می‌شناسیم: زیبایی ساختار DNA مکمل بی‌درنگ نشان می‌دهد که چگونه این مولکول می‌تواند نسخه خودش را الگو کند. برعکس ما خیلی کمتر در مورد اینکه چگونه اطلاعات موروثی اپی‌ژنتیک پس از عبور از چنگال تکثیر مضاعف می‌شود و به‌طور صحیح جایگزین می‌شود، می‌دانیم. درحالی‌که به خوبی همانندسازی الگوهای متیلاسیون DNA روی DNA تازه ساخته‌شده را می‌دانیم (فصل اول کتاب را ببینید) ولی هنوز شناخت جامع نداریم که چگونه اطلاعات رمزگذاری شده پروتئین نظیر علامت‌های هیستون و انواع هیستون به شیوهٔ قابل توارث حفظ می‌شود.

سایر فرایندهای هسته‌ای مانند ترمیم یا نوترکیبی DNA نیاز به هم‌ردیف کردن توالی‌های DNA و در نتیجه حذف موضعی ساختارهای نوکلئوزومی دارد. فرایندهای اختصاص داده‌شده، ترمیم سریع مکان‌های آسیب‌دیدهٔ باز و عوامل جست‌وجوی مورد نیاز برای هم‌ردیف کردن بخش‌های مکمل ژنوم برای تبادل توالی را تضمین می‌کند. (کروناکیس و پترسون، ۲۰۱۳؛ سیس تلی، ۲۰۰۹).

سایر فرایندهای هسته‌ای نظیر اضافه کردن توالی‌های تلومر به انتهای کروموزوم، تولید مکان‌های لنگر انداختن برای جداسازی کروموزوم‌ها یا خاموش کردن عناصر قابل انتقال یا تکراری در توالی‌های هتروکروماتین برای کارایی عملکردی‌شان به ساختارهای ویژهٔ کروماتین وابسته هستند. این موضوع نشان می‌دهد که برای پشتیبانی از فرایندهای هسته‌ای طی چرخهٔ سلولی، به شیوهٔ قابل پیش‌بینی و قابل اعتماد باید کروماتین به‌طور پویا تنظیم شود. کاهش میزان نوکلئوزوم‌ها نیز اثر مثبت دارد.

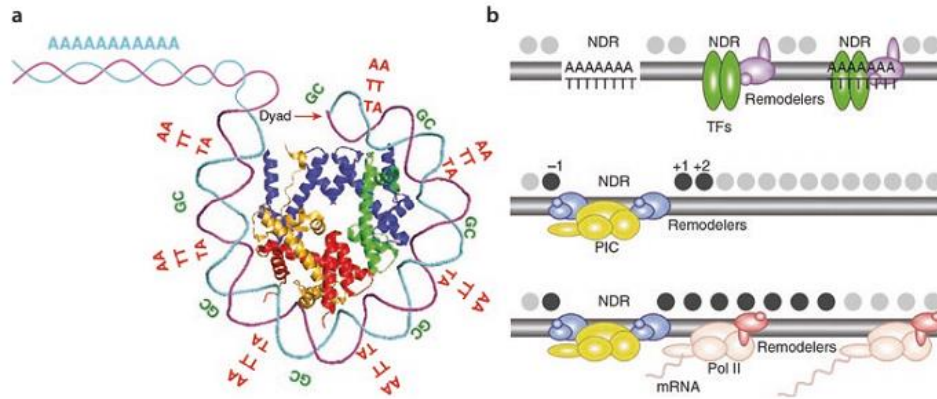
عوامل رونویسی مکان‌های اتصال فرضی بیشتری در ژنوم نسبت به آنچه در *in vivo* مشاهده می‌شود، دارند. در تلفیق با آنزیم‌های پردازشی نظیر RNA پلیمراز II این موضوع می‌تواند منجر به رونویسی ناخواسته و کاذب ژنوم شود. اختلال بیان این‌چنینی، به‌وسیلهٔ بسته‌بندی نوکلئوزوم کنترل می‌شود و فقط قابلیت کروماتین تنظیم‌شده، به فرایندهای هسته‌ای پایه اجازه می‌دهد تا فعالیت‌های خود را در مکان‌های ویژه و مورد نیاز در ژنوم به کار ببندازند.

۲-۲- اتصال نوکلئوزوم‌ها به توالی DNA

همان‌طور که بسته‌بندی، موجودیتی برای کل ژنوم است، واضح است که هیستون‌ها همانند عوامل رونویسی به توالی خاص DNA مشابه نمی‌توانند تکیه کنند. با این وجود به‌عنوان یک واحد نوکلئوزومی، پروتئین‌های هیستون به‌طور کامل با DNA که در اطراف هیستون می‌پیچد، برهم‌کنش دارند. این امر تنها از طریق برهم‌کنش‌های شیمیایی مجزا بین اسیدهای نوکلئیک و هیستون‌ها حاصل می‌شود. به این ترتیب، سرهم‌بندی نوکلئوزوم از نظر ترمودینامیکی برای برخی توالی‌ها در مقایسه با بقیه ترجیح داده می‌شود. این موضوع نشان می‌دهد که معماری کروماتین با توالی ژنوم اداره می‌شود (پارمار و پادین هاتری، ۲۰۲۰؛ راندو، ۲۰۱۴؛ استرال و سگال، ۲۰۱۳). عوامل تعیین‌کنندهٔ معین توالی، نظیر دی‌نوکلئوتیدهای ویژه، بر خم‌شدن DNA در نتیجهٔ تشکیل نوکلئوزوم اثر می‌گذارند. تشکیل نوکلئوزوم بهینه وقتی اتفاق می‌افتد که دی‌نوکلئوتیدهای خم‌شونده (TA و AT) روی سطح تکراری مارپیچ (تقریباً هر ۱۰ جفت باز) که مستقیماً با هیستون‌ها برهم‌کنش دارند، رخ دهد (شکل ۲-۱).

موقعیت دقیق هشت‌تایی هیستون با توجه به تکرار مارپیچ ۱۰ جفت باز مارپیچ دوگانه DNA، موقعیت چرخشی نامیده می‌شود، بنابراین توالی، یک عامل تعیین‌کنندهٔ مهم برای سرهم‌بندی نوکلئوزوم است؛ اما برهم‌کنش‌های DNA با پروتئین نه‌تنها بازخوانی باز را تشخیص می‌دهند بلکه وابسته به ساختار شکل موضعی رشتهٔ DNA هستند که به‌وسیله توالی موضعی بازها تعیین می‌شود (روز و همکاران، ۲۰۱۰). پیچ‌خوردگی‌های موضعی رشته DNA یا پهنای متغیر شیار کوچک، بر کارایی تشکیل نوکلئوزوم تأثیر می‌گذارد. برعکس برخی از توالی‌های هوموپلیمری نظیر پلی (dA:dT) و پلی (dG:dC) نسبتاً سخت هستند و قویاً مهارکنندهٔ تشکیل نوکلئوزوم هستند. چنین توالی‌هایی اغلب در موقعیت‌هایی یافت می‌شوند که حضور نوکلئوزوم کاهش پیدا می‌کند تا امکان دسترسی عوامل رونویسی یا پلی‌رازها به‌ترتیب به تشدیدکننده‌ها یا پروموتورها فراهم شود. از این‌رو تلفیقی از توالی‌های DNA با عملکرد مثبت یا منفی تأثیر زیادی بر موقعیت نوکلئوزوم‌ها در ژنوم دارند.

در واقع این اطلاعات امکان پیش‌بینی نسبتاً درست موقعیت نوکلئوزوم‌ها را در ژنوم مخمر به‌وسیله روش‌های محاسباتی فراهم می‌کند. تلاش‌های مشابه برای ژنوم‌های پیچیده شکست‌خورده است، احتمالاً به این دلیل که عوامل دیگر ممکن است به‌شدت سرهم‌بندی و موقعیت نوکلئوزوم‌ها را تحت تأثیر قرار دهند (پایین را ببینید). این موضوع نشان می‌دهد که اثرات وابسته به توالی ممکن است برای موقعیت نوکلئوزوم در جانداران عالی‌تر اهمیت کمتری داشته باشد.



شکل ۲-۱: توالی تعیین‌کننده موقعیت نوکلئوزومی. a اولویت‌های توالی نوکلئوزوم. در ۱۴۷ جفت بازی که به دور هیستون هشت تایی پیچیده می‌شود، اولیتهای برای دی‌نوکلئوتیدهای مجزا وجود دارد که به‌طور دوره‌ای در مارپیچ DNA تکرار می‌شود و مشخص شده که خمیدگی شدید DNA اطراف نوکلئوزوم را تسهیل می‌کند. این نوکلئوتیدها شامل دی‌نوکلئوتیدهای TA یا TT و AA دوره‌ای ۱۰ جفت بازی هستند که به‌صورت هم‌فاز با همدیگر و غیرهم‌فاز با دی‌نوکلئوتیدهای GC دوره‌ای ۱۰ جفت بازی نوسان می‌کنند. نواحی پیونددهنده، اولیتهای زیادی را برای توالی‌هایی نشان می‌دهد که در برابر خمیدگی DNA مقاومت می‌کنند؛ بنابراین، تمایلی برای تشکیل نوکلئوزوم ندارند. در بین این‌ها نواحی پلی (dA:dT) و انواع آن‌ها غالب‌ترین و غنی‌ترین نواحی در پروموتورهای یوکاریوتی هستند. b عوامل تعیین‌کننده موقعیت نوکلئوزوم (بالا) نواحی خالی‌شده نوکلئوزوم^۱ یا به‌وسیله نواحی پلی (dA:dT) و/یا با عوامل رونویسی و کمپلکس‌های بازسازی نوکلئوزوم که آن‌ها را به‌خدمت می‌گیرد، ایجاد می‌شوند. (پایین را ببینید). دایره‌های خاکستری نشان‌دهنده نوکلئوزوم‌ها است. (وسط) نوکلئوزوم‌هایی که در موقعیت‌های ترجیح داده‌شده (دایره سیاه) پهلوی نواحی خالی‌شده نوکلئوزوم قرار دارند به‌وسیله کمپلکس‌های بازسازی‌شده نوکلئوزوم (به‌عنوان مثال Isw2 و RSC احتمالاً به شیوه مستقل از رونویسی) ایجاد می‌شوند و با کمپلکس پیش‌آغازی RNA پلیمراز II (PIC) و عوامل مرتبط به‌دقت تنظیم می‌شود. (پایین) موقعیت نوکلئوزوم‌های پایین‌دست‌تر به طول‌سازی رونویسی و به‌کارگیری فعالیت‌های بازسازی نوکلئوزوم (به‌عنوان مثال Chd1 و Isw1) و چاپرون‌های هیستون به‌وسیله ماشین طول‌سازی RNA پلیمراز II بستگی دارد (از سگال، ۲۰۱۳).

^۱ Nucleosome-depleted regions (NDRs)

علاوه بر وابستگی متقابل موضعی بین توالی DNA و موقعیت نوکلئوزوم، تعدادی عناصر تنظیمی DNA با تأثیر قوی بر کنفورماسیون‌های کروماتین تکامل یافته‌اند. کروماتین سرکوب‌شده، مانند هتروکروماتین از طریق کمپلکس‌های چندپروتئینی با فعالیت پلیمریزاسیون قوی ایجاد می‌شود. آن‌ها رشته نوکلئوزومی را روی یک ناحیه کروموزومی گسترده به صورت آرایش متراکم و منظم بسته‌بندی می‌کنند (فصل اول کتاب را ببینید). نواحی هتروکروماتینی نه تنها یک آرایه منظم موضعی نوکلئوزوم‌های متراکم بلکه یک خوشه‌ای در فضای سه‌بعدی هسته را نیز نشان می‌دهد. این ساختار بسیار سرکوب‌کننده به طور بالقوه می‌تواند ژن‌های فعال نزدیکش را غوطه‌ور کند. تمایل هتروکروماتین برای گسترش در طول کروموزوم را می‌توان در تنوع اثر موقعیت^۱ مشاهده کرد. بعد از جابه‌جایی کروموزومی، هتروکروماتین سرکوب‌کننده به نواحی‌ای با ژن‌های یوکروماتینی می‌تواند گسترش پیدا کند و فعالیت تنظیم‌شده طبیعی آن‌ها را مهار کند. به طور طبیعی حضور عناصر تنظیمی به نام عناصر مرزی یا عایق‌ها این رفتار گسترش‌دهنده هتروکروماتین را مهار می‌کند (والن زولا و کاماکا، ۲۰۰۶). در مواردی که این عایق‌ها از دست می‌روند، انتشار تصادفی هتروکروماتین در ژن‌های یوکروماتین مجاور می‌تواند مشاهده شود که منجر به بیان تغییر این ژن‌ها می‌شود.

اما همچنین در سطح موضعی، دمین‌های مختلف کروماتین و واحدهای تنظیمی ژن باید به طور مناسب کنترل شوند، به طوری که بتوانند عملکرد خود را نه در بعد خطی رشته DNA، بلکه در فضای سه‌بعدی واقعی هسته اعمال کند. در جایگاه‌های ژنتیکی پیچیده، چنین عناصر عایقی، برهم کنش خاص تکوینی و ویژه بافت عناصر تشدیدکننده دور را با ناحیه پروموتور متناظر خود تنظیم می‌کند. به علاوه چنین عناصری از انتشار کروماتین سرکوب‌کننده مانند کروماتین-گروه پلی‌کومب به دمین‌های فعال بیان مجاور جلوگیری می‌کند (فصل سوم کتاب را ببینید). از نظر فنی، این دانش به وسیله در کنار هم قراردادن تراژن با عناصر عایق که یک دمین مستقل عملکردی محافظت‌شده در برابر اثرات موقعیت در جایگاه درج تراژن ایجاد می‌کند، می‌تواند استفاده شود. پیام‌دهی تنظیمی مناسب در دمین عایق‌شده می‌تواند اتفاق بیافتد، به طوری که عایق‌ها از برهم‌کنش‌های تصادفی کروماتین خارجی جلوگیری می‌کنند.

عواملی نظیر عامل متصل‌شونده به CCCTC ویژه توالی اتصال به عایق‌ها، نه تنها برهم‌کنش‌های موضعی کروماتین را سازماندهی می‌کند بلکه در ارتباط با سایر عناصر مرتبط با کروماتین نظیر کوهسین نیز در تشکیل حلقه کروماتین در مقیاس بزرگ یا هماهنگی ارتباط توپولوژیکی دخالت دارد (فصل اول کتاب را ببینید). از این رو در بسیاری از نقاط ژنوم، توالی DNA از طریق برهم‌کنش‌های پروتئین-DNA خاص، نقش ساختاری مهمی در سازمان‌دهی کروماتین ایفا می‌کند

^۱. Position effect variegation (PEV)

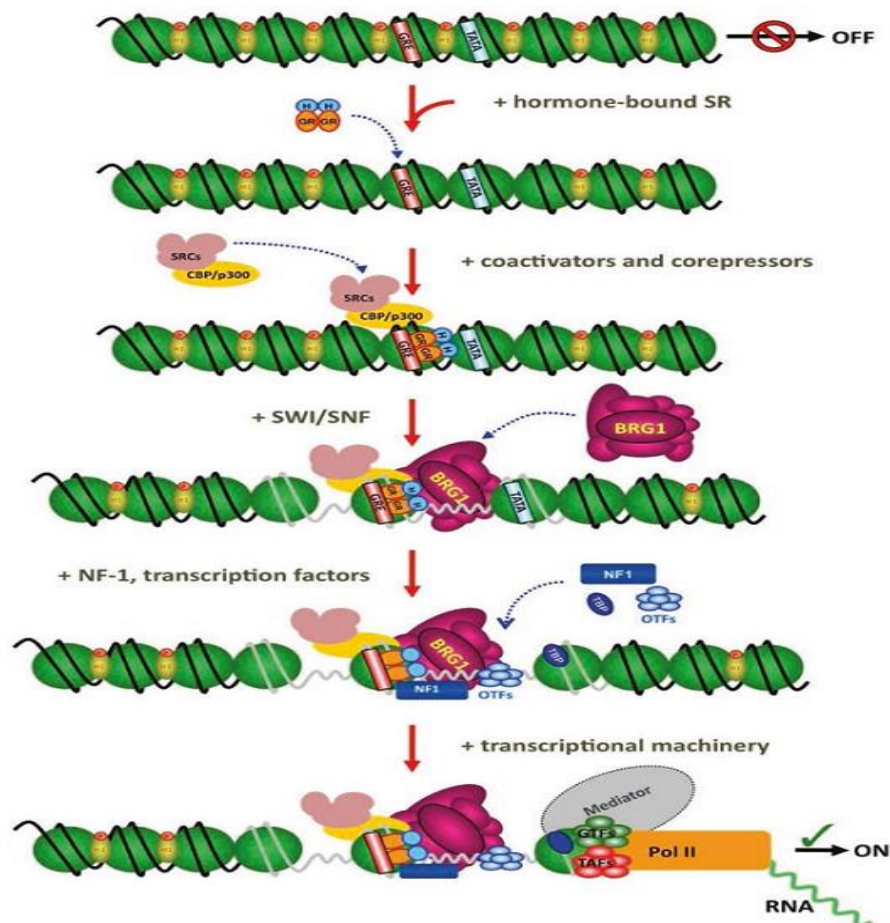
و به دنبال آن در چشم‌انداز اپی‌ژنتیک مشارکت می‌کند. از آنجاییکه هر سلول یک جاندار معین دارای DNA یکسان است، پرسش این است که چگونه این ساختار صلب ظاهری کروماتین، محیط بسیار پویا برای تنظیم فعالیت هسته‌ای پایه، به شیوه ویژه نوع سلول را امکان‌پذیر می‌سازد. در بخش بعدی این فصل در مورد نحوه تنظیم موقعیت نوکلئوزوم بحث خواهیم کرد.

۲-۳- بازسازی نوکلئوزوم

۲-۳-۱- الگوی برای رونویسی

این فرایند هسته‌ای، RNA ها را از ژن‌هایی که در نواحی مختلف الگوهای ژنومی قرار دارند، رونویسی می‌کند. این واحدهای رونویسی شامل RNA های ریبوزومی، tRNA و mRNA و miRNA به‌تازگی کشف شده و RNA های طولی غیررمزکننده که در فرایندهای زیستی مجزا نقش دارند، است. در همه موارد، فرایند رونویسی به‌شدت به شیوه زمانی و مکانی کنترل می‌شود. RNA پلیمرازها باید از سه مرحله آغاز، طولی‌سازی و خاتمه عبور کنند (کرامر، ۲۰۱۹). مرحله آغاز شامل شناسایی توالی پرموتر DNA، بازکردن رشته‌های DNA و ساختن الیگومر RNA اولیه کوتاه است (کایرنز، ۲۰۰۹). طی مرحله طولی‌سازی، پلیمراز از الگوی DNA برای ساختن زنجیر RNA به شیوه فرایندی استفاده می‌کند. در نهایت DNA و RNA در خاتمه رها می‌شوند و پلیمراز می‌تواند بازیابی شود و رونویسی را دوباره آغاز کند. کل این فرایند در آرایش خاص نوکلئوزوم‌ها و توام با تغییرات هیستون در واحد رونویسی بازنمایی می‌شود. ناحیه پرموتر فاقد نوکلئوزوم است، در حالی که ناحیه پایین‌دست، نوکلئوزوم‌های به‌طور منظم برنامه‌ریزی‌شده را به‌دلیل عبور مکرر کمپلکس پلیمراز، به‌کار می‌گیرد (شکل ۱-۲ d و c).

از نظر بیوشیمیایی، یک سلسله اتفاقات به‌طور ایده‌آل می‌تواند در یک ژن القاپذیر به‌عنوان مثال یک ژن هدف که به‌وسیله گیرنده هورمون هسته‌ای فعال می‌شود، مطالعه شود (شکل ۲-۲). تحت چنین شرایطی، فرایند به‌صورت همزمان با اضافه کردن هورمون به کشت بافت می‌تواند شروع و بررسی شود. پس از اتصال هورمون، گیرنده هسته‌ای دایمر شده و وارد هسته می‌شود. با کمک عوامل جانبی، گیرنده به مکان شناسایی DNA خود حتی در موقعیت نوکلئوزومی می‌تواند متصل شود. برای باز کردن ساختارهای کروماتین در مرحله بعد، عوامل بازسازی جذب می‌شوند (فصل اول را ببینید). DNA باز شده می‌تواند به عوامل رونویسی عمومی می‌تواند متصل شود؛ در نتیجه کمپلکس‌های قبل از آغاز رونویسی روی پرموتر بارگذاری شود.



شکل ۲-۲: نقاط عبور کلیدی طی پیام‌دهی هورمون. بعد از اتصال هورمون، گیرنده گلوکوکورتیکوئید^۱ دایمر می‌شود، وارد هسته شده و به توالی‌های هدف نظیر عناصر پاسخ به گلوکوکورتیکوئید^۲ داخل کروماتین متصل می‌شود. گیرنده به تنظیم‌کننده‌هایی نظیر NcoA1/SRC-1, NcoA2/TIF-2/GRP-1 و CBP/p300 متصل می‌شود که برای درگیر شدن گیرنده در پروموتور نیازی به بازسازی ندارند. در مرحله بعد این عوامل به‌طور مستقیم کمپلکس بازسازی نوکلئوزوم BRG1، سوئیچ/سوکروز غیرقابل تخمیر را به سمت پروموتور جذب می‌کنند که منجر به تشکیل منطقه بدون نوکلئوزوم می‌شود. این امر اجازه می‌دهد عوامل رونویسی نظیر NF-1 و عوامل رونویسی هشت‌تایی^۳ و پروتئین متصل شونده به TATA^۴ با پروموتور درگیر شوند. در نهایت پروتئین‌های میانجی به خدمت گرفته می‌شوند و کمپلکس قبل از آغاز شکل می‌گیرد که منجر به رونویسی توسط RNA پلیمراز II می‌شود (از کینگ و همکاران، ۲۰۱۲).

^۱ Glucocorticoid receptor (GR)

^۲ Glucocorticoid Response Element (GRE)

^۳ Octamer transcription factors (OTFs)

^۴ TATA-binding protein (TBP)

در بسیاری از موارد، کوفاکتور SAGA^۱ یک کمپلکس چند عملکردی است که آغاز رونویسی در موقعیت کروماتین را تسهیل می‌کند. کمپلکس TFIID نیز به‌عنوان کوفاکتوری عمل می‌کند که در شناسایی پروموتور نقش دارد. هم SAGA هم TFIID، می‌توانند پروتئین متصل‌شونده به جعبه TATA را به پروموتورها برسانند و سرهم‌بندی کمپلکس پیش‌آغاز را تسهیل کنند. RNA پلیمرازهای یوکاریوتی به تعدادی عوامل رونویسی عمومی برای آغاز نیاز دارند. سرهم‌بندی پلیمراز روی پروموتورها برای تشکیل کمپلکس پیش‌آغاز نیاز به عوامل رونویسی عمومی مانند TFIIF، TFIIE، TFIID، TFIIB، TFIIA و TFIIF دارد. در مورد RNA پلیمراز II، عوامل رونویسی به‌طور مستقیم پلیمراز را هدف قرار نمی‌دهند، بلکه تا حدی از طریق برهم‌کنش با کوفاکتورهایی نظیر کمپلکس چندپروتئینی میانجی، پلیمراز II را هدف قرار می‌دهند. پس از بازشدن DNA، رشته الگوی DNA به مرکز فعال پلیمراز منتقل می‌شود. سپس رشته الگو بدون استفاده از اولیگونوکلوئوتیدهای آغازگر ساختن از آغاز زنجیر RNA را هدایت می‌کند. ادامه ساختن شدن RNA تا رسیدن به طول بحرانی در نهایت باعث جداشدن کمپلکس پیش‌آغاز، فرار پلیمراز از پروموتور و تشکیل کمپلکس پایدار طول‌سازی می‌شود.

کمپلکس طول‌سازی پلیمراز II اغلب در پایین‌دست مکان شروع رونویسی توقف می‌کند (گارتنر و زیتلینگر، ۲۰۱۴؛ ادلمن و لیس، ۲۰۱۲). پلیمراز II متوقف‌شده با عوامل طول‌سازی نظیر عامل القاکننده حساسیت DRB^۲ و عامل طول‌سازی منفی^۳ می‌تواند تثبیت شود اما همچنین ممکن است خاتمه پیدا کند (شکل ۳-۲). با یک پیام مثبت اضافی، پلیمراز II به‌وسیله عامل طول‌سازی رونویسی مثبت کیناز b^۴ از حالت توقف رها می‌شود و تبدیل به حالت فعال طول‌سازی می‌شود. عامل طول‌سازی رونویسی مثبت کیناز b، پلیمراز II، عامل القاکننده حساسیت DRB و عامل طول‌سازی منفی را فسفریله می‌کند، این امر منجر به جداشدن عامل طول‌سازی منفی و به‌کارگیری عوامل طول‌سازی می‌شود که پیش‌روی پلیمراز II را برمی‌انگیزد. تعدادی از فرایندهای اپی‌ژنتیک، رونویسی را مستقیماً در مکان پلیمراز II متوقف‌شده، کنترل می‌کنند. خاموش‌شدن با پروتئین‌های گروه پلی‌کومب (فصل سوم را ببینید) نتیجه مهار طول‌سازی به‌وسیله کمپلکس‌های پروتئین‌های گروه پلی‌کومب سرکوبگر است. طول‌سازی رونویسی به پردازش RNA نوپا جفت می‌شود. این جفت‌شدن نیاز به دمین تکراری C-ترمینال^۵ دارد. طی طول‌سازی، دمین تکراری C-ترمینال به‌شدت فسفریله می‌شود و عواملی برای پردازش پس از رونویسی نظیر اضافه‌کردن کلاهک به mRNA، اسپلایسینگ

^۱. Spt-Ada-Gcn5-acetyltransferase (SAGA)

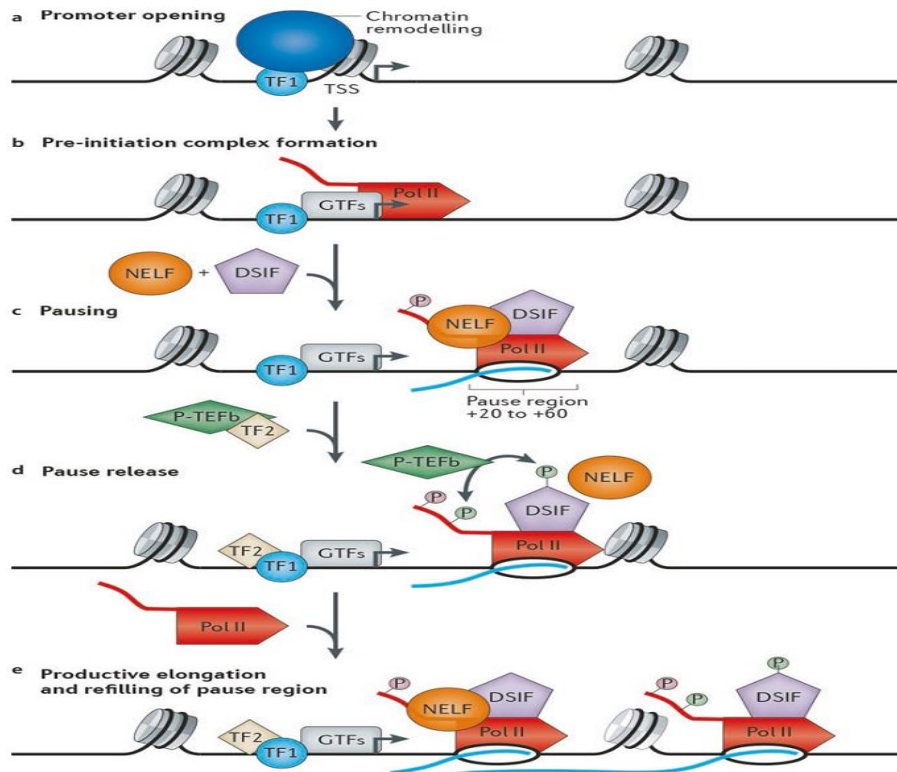
^۲. DRB sensitivity-inducing factor (DSIF)

^۳. Negative elongation factor (NELF)

^۴. Positive transcription elongation factor (P-TEFb)

^۵. C-terminal repeat domain (CTD)

و نیز آنزیم‌هایی که هیستون‌ها را تغییر می‌دهند، به کار می‌گیرد. در حقیقت به نظر می‌رسد چشم انداز کروماتین در ژن تأثیر عمیقی بر حوادث پس از رونویسی دارد، به عنوان مثال، این ویژگی حوادث اسپلایسینگ را تحت تأثیر قرار می‌دهد. در انتهای ناحیه رونویسی شده، پلیمراز II مکان پلی آدنیلایسیون را رونویسی می‌کند که منجر به برش رونوشت نوپای RNA و بلوغ mRNA می‌شود.



شکل ۲-۳. ایجاد و رهاسازی RNA پلیمراز II متوقف شده. ناحیه پروموتور با مکان شروع رونویسی نشان داده شده است. عواملی که در ایجاد یا رهاسازی RNA پلیمراز II متوقف شده نظیر عامل القاکنده حساسیت DRB (پنج ضلعی بنفش)، عامل طولی سازی منفی (بیضی نارنجی) و عامل طولی سازی رونویسی مثبت b (الماس سبز رنگ) نقش دارند، نشان داده می شود. a باز کردن پروموتور اغلب مستلزم اتصال یک عامل رونویسی مختص توالی (اینجا به عنوان TF1 نشان داده شده) است که بازسازی کننده، کروماتین را وارد می کند تا نوکلئوزوم را از اطراف مکان شروع رونویسی بردارد و پروموتور را برای به کارگیری ماشین رونویسی در دسترس قرار دهد. b تشکیل کمپلکس پیش آغاز مستلزم به کارگیری مجموعه عوامل رونویسی عمومی و RNA پلیمراز II است که همچنین با اتصال عوامل رونویسی خاص (برای سادگی TF1 نشان داده شده است) تسهیل می شود. این مرحله قبل از آغاز ساختن RNA است. c توقف پلیمراز II مدت کوتاهی پس از آغاز رونویسی رخ می دهد و مستلزم ارتباط عوامل توقف، عامل القاکنده حساسیت DRB و عامل طولی سازی منفی است. d ترمینال پلیمراز II متوقف شده، فسفریله می شود. ناحیه ای که در آن توقف اتفاق افتاده در شکل نشان داده شده است. e رها شدن از توقف با به کار گرفتن عامل طولی سازی رونویسی مثبت کیناز b به طور مستقیم یا غیرمستقیم از طریق عامل رونویسی (اینجا TF2 نشان داده شده) راه اندازی می شود. عامل طولی سازی رونویسی مثبت کیناز b، کمپلکس عامل القاکنده حساسیت DRB- عامل طولی سازی منفی را فسفریله می کند تا پلیمراز II متوقف شده رها شود و نیز دمین تکراری c- ترمینال را هدف قرار دهد. فسفریلاسیون کمپلکس عامل القاکنده حساسیت DRB- عامل طولی سازی منفی، عامل طولی سازی منفی را از کمپلکس طولی سازی جدا می کند و عامل القاکنده حساسیت DRB را به عامل طولی سازی مثبت تبدیل می کند که در سرتاسر ژن با پلیمراز II در ارتباط است. e در حضور هم TF1 هم TF2، فرار پلیمراز II متوقف شده به سمت طولی سازی فعال به سرعت با ورود پلیمراز دیگر به مکان توقف دنبال می شود که این امر امکان تولید RNA کارآمد را فراهم می کند. وقتی که ژن فعال می شود برخی اختلالات نوکلئوزومی محتمل است، همان طوری که با رنگ های روشن تر نوکلئوزوم پایین دست نشان داده شده است (از ادلمن و لیس، ۲۰۱۲).

در هر نقطه از چرخه رونویسی، عوامل توصیف شده در بالا با یک الگوی کروماتین برهم کنش دارند؛ بنابراین فعالیت های اضافی شرکا برای دسترسی بیشتر به DNA نیاز است. عوامل رونویسی پیشگام، توالی اتصال به DNA هم ریشه خود را در موقعیت نوکلئوزومی شناسایی می کند و با جذب کمپلکس های هیستون استیلاز نظیر SAGA که به طور موضعی ساختارهای نوکلئوزومی سرکوبگر را ناپایدار می کنند، کروماتین را باز می کنند؛ اما برای دسترسی به DNA در یک منطقه گسترده، همان طور که به عنوان مثال برای سرهم بندی کمپلکس پیش آغاز رونویسی مورد نیاز است، یک ماشین وابسته به انرژی برای تشکیل کمپلکس های بازسازی کروماتین وابسته به ATP ضروری است.

۲-۳-۲- کمپلکس های بازسازی کروماتین

فرایند بازسازی مستلزم آرایش مجدد برهم کنش هیستون- DNA یا با ایجاد اختلال، سرهم بندی مجدد یا حرکت کردن نوکلئوزوم است (ساندارامورتی، ۲۰۱۹). آنزیم هایی که به عنوان کمپلکس های بازسازی کروماتین وابسته به ATP شناخته می شوند با اتصال به نوکلئوزوم تکی و آرایش مجدد آن از طریق استفاده از انرژی به دست آمده از هیدرولیز ATP، می توانند تغییراتی ایجاد کنند. بازسازی کننده ها می توانند (۱) میانجی سرخوردن نوکلئوزوم باشند که نوکلئوزوم روی DNA در هر جهت حرکت کند (۲) دسترسی به عوامل رونویسی را فراهم کند که به موجب آن هیستون ها متصل باقی بمانند ولی DNA در دسترس تر شود (۳) خروج هیستون هشت تایی را القا کند (۴) هیستون اصلی را با هیستون متفاوت جایگزین کند (شکل ۲-۴) (لورچ و کورنبرگ، ۲۰۱۷؛ کلاپیر و کایرنز، ۲۰۰۹). اهمیت کلی این فرایندها نیز شواهدی برای این واقعیت است که اجزای کمپلکس های بازسازی کروماتین غالباً در سرطان ها دچار موتاسیون می شوند (فصل هشتم را ببینید).

ویژگی مشترک طیف گسترده اثرات، به عملکرد آنزیمی عمومی متکی است؛ فعالیت DNA ترانسلوکاز وابسته به ATP که برای شکستن ارتباط DNA-هیستون استفاده می شود. فعالیت این آنزیم به وسیله زیر واحد ATPase کاتالیتیک از نظر تکاملی حفاظت شده، انجام می شود. این زیر واحد ATPase بازسازی کننده، یک تاخوردگی معمولی DNA/RNA هلیکازها و ترانسلوکازهای ابرخانواده خیلی بزرگتر ۱۲ را انتخاب می کند. مشابه DNA ترانسلوکازهای ابرخانواده ۲، ATPase بازسازی کننده دارای چندین موتیف بسیار حفاظت شده نظیر موتیف های WALKER/B^۲، شکاف اتصال به DNA و مکان اتصال به ATP هستند که همگی برای جابه جایی DNA مهم اند. ATPase بازسازی کننده از این نظر با DNA ترانسلوکازهای ابرخانواده ۲ تفاوت دارند که آن ها دارای میل ترکیبی خیلی بیشتری به نوکلئوزوم ها در مقایسه با DNA لخت هستند. نکته جالبی که از مطالعه ساختارهای

^۱. Superfamily 2 (SF2)

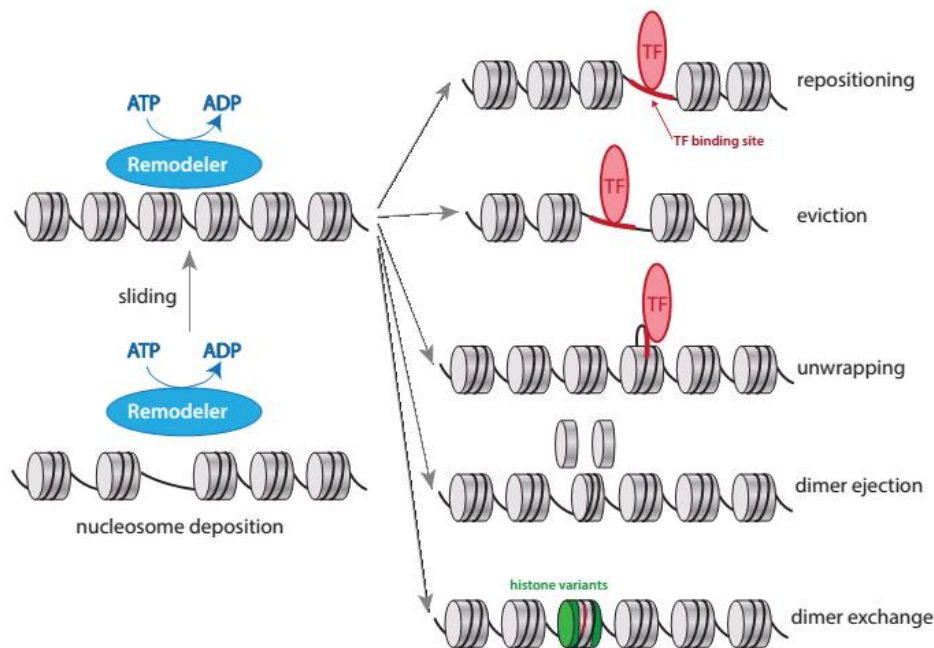
^۲. WALKER A/B motifs (این موتیف اولین بار توسط جان واکر، و همکارانش در سال ۱۹۸۲ گزارش شد)

کمپلکس‌های مختلف نوکلئوزوم- بازسازی‌کننده با میکروسکوپ الکترونی کرایو اخیراً به‌دست آمده، این است که بازسازی‌کننده‌ها چرخش‌های خارجی DNA دور نوکلئوزوم را باز می‌کنند. این موضوع یک گام کلیدی برای به حداقل رساندن تعداد تماس‌های DNA-هیستون و به حداکثر رساندن بازده هیدرولیز ATP است (شکل ۲-۵). بر اساس موتیف /دمین‌های مشترک در زیرواحد ATPase که عملکرد ATPase بازسازی‌کننده را به‌دقت تنظیم می‌کند و انتخابی بودن آن را برای سوبستراهای نوکلئوزومی تعریف می‌کند، خانواده Snf2 ATPase به چهار طبقه مختلف گروه‌بندی می‌شود: INO80-SWR1 و SWI/SNF, ISWI, CHD/Mi-2.

بازسازی‌کننده‌های سوئیچ/سوکروز غیرقابل تخمیر^۱، تنظیم‌کننده‌هایی هستند که در طیف گسترده‌ای از فرایندهای کنترل ژن در انواع سلول‌ها نقش دارند. حداقل دو شکل از Snf2 ATPase‌های خاص سوئیچ/سوکروز غیرقابل تخمیر معمولاً متشکل از ۹ تا ۱۴ زیرواحد در بیشتر انواع سلول‌ها با دمین‌های به‌خوبی حفاظت‌شده وجود دارند که عبارت‌اند از: یک دمین برومو متصل شونده به استیل لیزین، یک دمین SANT مرتبط با هلیکاز که به پروتئین مرتبط به اکتین^۲ و دمین هلیکاز خانواده ابرخانواده ۲ متصل می‌شود. در مخمر ساکارومایسس سرویزیه، این دو شکل به‌عنوان سوئیچ-سوکروز غیرقابل تخمیر (شامل ATPase Swi2 که Snf2 نیز نامیده می‌شود) و RSC (شامل ATPase Sth1) نامیده می‌شوند. کمپلکس‌های سوئیچ/سوکروز غیرقابل تخمیر با خاموشی اپی‌ژنتیکی توسط پروتئین‌های گروه پلی‌کومب می‌توانند مخالفت کنند (به فصل سوم مراجعه کنید). در مگس سرکه، نشان داده شده که پروتئین‌های گروه پلی‌کومب سرکوب، ژن‌های *Hox* در طول جنین‌زایی را حفظ می‌کنند، درحالی‌که کمپلکس سوئیچ/سوکروز غیرقابل تخمیر باعث فعال‌شدن ژن *Hox* می‌شود. در سلول‌های پستانداران، کمپلکس‌های سوئیچ/سوکروز غیرقابل تخمیر به‌طور کلی به دو نوع کمپلکس گروه‌بندی می‌شوند: کمپلکس‌های hBAF دارای ATPase BRG1 یا BRM و چندین زیرواحد اصلی جایگزین مانند ARID1A یا ARID1B و کمپلکس‌های hPBAF (مرتبط با پلی برومو) شامل ATPase BRG1 مرتبط با عواملی مانند PBRM1 و ARID2 است. هر دو برای بقای سلول ضروری هستند و در تعدادی از فرایندهای رونویسی نقش دارند.

^۱. SWItch/Sucrose Non-Fermentable (SWI/SNF)

^۲. Actin-related protein (ARP)



شکل ۲-۴- فعالیت‌های کمپلکس‌های بازسازی کروماتین. بازسازی‌کننده‌ها از سرهم‌بندی الگوی کروماتین منظم با سرخوردن نوکلئوزوم قرارداده شده و به موجب آن فراهم کردن فضا برای نوکلئوزوم‌های جدید، پشتیبانی می‌کنند. بازسازی‌کننده‌ها با جابه‌جا کردن نوکلئوزوم‌ها به کنار (تغییر موقعیت)، با بیرون انداختن یک نوکلئوزوم کامل (بیرون کردن) یا با آزاد کردن جزئی DNA (باز کردن) می‌توانند یک محل اتصال برای یک عامل رونویسی ایجاد کنند. علاوه بر این، بازسازی‌کننده‌ها می‌توانند ترکیب موضعی نوکلئوزوم‌ها را با خارج کردن یک دایمر یا جایگزین کردن دایمرها با اشکال مختلف متناظر، تغییر دهند (تبادل دایمر).

بازسازی‌کننده‌های سوئیچ تقلیدی^۱ ابتدا در مگس سرکه شناسایی شدند و متعاقباً در گونه‌های دیگر نظیر مخمر، زنبوپوس و انسان مشاهده شده‌اند. در مگس سرکه، کمپلکس حداقل به چهار شکل وجود دارد ACF, NURF, CHRAC و RSF. هر چهار کمپلکس دارای پروتئین ATPase سوئیچ تقلیدی یکسانی هستند، اما دارای زیرواحدهای مرتبط متفاوتی هستند که احتمالاً برای اعمال ویژه بازسازی، مهم هستند. در مخمر ساکارومایسس دو کمپلکس مجزای سوئیچ تقلیدی (ISW2 و ISW1) وجود دارند. پستانداران دارای دو هومولوگ سوئیچ تقلیدی و SNF2L (با ژن *SMARCA1* و رمزگذاری می‌شود) و SNF2H (از طریق ژن *SMARCA5* رمزگذاری می‌شود) هستند. در پستانداران، پنج کمپلکس سوئیچ تقلیدی شناسایی شده است: ACF, CHRAC, WICH, RSF و NoRC. کمپلکس‌های سوئیچ تقلیدی معمولاً هتروداایمر هستند و از یک پروتئین سوئیچ تقلیدی

^۱. Imitation SWItch (ISWI)

(SNF2H یا SNF2L) و زیرواحدی دیگر تشکیل شده‌اند که فرایندهای زیستی خاصی را فراهم می‌کند. بازسازی‌کننده‌های سوئیچ تقلیدی، آرایه‌های نوکلئوزومی با فاصله منظم تولید می‌کنند که قرار دادن هیستون‌ها را بر روی DNA تسهیل و در پیشرفت همانندسازی و سرکوب رونویسی شرکت می‌کنند.

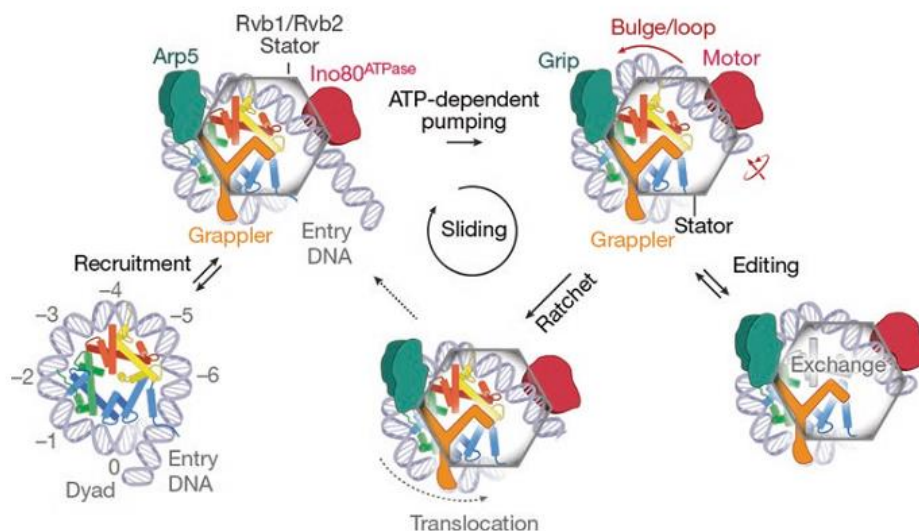
اعضای خانواده دمین متصل‌شونده به DNA کرومودمین هلیکاز^۱ با حضور کرومودمین‌های متوالی در ناحیه N- ترمینال ATPase و دمین متصل‌شونده به DNA ناحیه C- ترمینال مشخص می‌شوند. این خانواده به شدت حفاظت‌شده، بر اساس وجود دمین‌های پروتئینی اضافی به سه زیرخانواده تقسیم می‌شوند. اولین زیرخانواده، به وسیله یک دمین متصل‌شونده به DNA اضافی مستقر در ناحیه C- ترمینال تعریف می‌شود. این زیرخانواده شامل Chd1 مخمر ساکارومایسس، تنها عضو خانواده دمین متصل‌شونده به DNA کرومودمین هلیکاز در مخمر و نیز Chd1 و Chd2 در یوکاریوت‌های عالی‌تر است. دومین زیرخانواده، شامل پروتئین‌های Chd3 و Chd4 و نیز Mi-2 مگس سرکه است که با حضور یک دمین PHD ناحیه N- ترمینال اضافی مشخص می‌شود. اعضای دومین زیرخانواده، به‌طور معمول بخشی از کمپلکس‌های چندزیرواحدی بزرگ هستند که علاوه بر عملکردهای بازسازی مجدد کروماتین، دارای فعالیت‌های داستیلاسیون هیستون نیز هستند. سومین زیرخانواده، شامل پروتئین‌های chd5- chd9 هستند و با محرک‌های عملکردی اضافی در ناحیه C- ترمینال از جمله دمین‌های BRK جفت شده، دمین شبیه SANT، دمین‌های کرومو و دمین متصل‌شونده به DNA مشخص می‌شود.

بازسازی‌کننده‌های خانواده اینوزیتول^۲ ۸۰، جدیدترین کمپلکس‌های بازسازی شناخته‌شده هستند. اینوزیتول ۸۰ چند زیرواحدی و SWR1 از اعضای زیرخانواده، خانواده اینوزیتول ۸۰ هستند. اینوزیتول ۸۰ بیان ژن، ترمیم و همانندسازی DNA با سرخوردن نوکلئوزوم‌ها، تبادل هیستون H2A.Z با H2A و تثبیت موقعیت نوکلئوزوم‌های +۱ و -۱ در DNA پروموتور را تنظیم می‌کند. مطالعات اخیر با میکروسکوپ الکترونی کرایو، مکان‌های برهم‌کنش اینوزیتول ۸۰ با نوکلئوزوم را مشخص کرد (شکل ۲-۵ را ببینید) (استرمان و همکاران، ۲۰۱۸). بررسی آن‌ها، مکانیسمی شبیه چرخ ضامن‌دار برای نحوه سرخوردن و احتمالاً ویرایش نوکلئوزوم‌ها را توسط اینوزیتول ۸۰ نشان می‌دهد. اینوزیتول ۸۰، هیستون‌ها و DNA را با برهم‌کنش‌های چندظرفیتی جدا می‌کند و محکم می‌گیرد. موتور برای پمپ کردن DNA به داخل نوکلئوزوم، بر ضد کمپلکس پروتئین متصل به اکتین که می‌تواند روی DNA نگه دارد، مستقر می‌شود تا نیروی کافی از طریق چندین گام کوچک موتور ایجاد شود. چنین مکانیزمی ممکن است یک حلقه DNA بین موتور و کمپلکس پروتئین متصل به اکتین ایجاد کند.

^۱. Chromodomain-helicase-DNA-binding domain (CHD)

^۲. INO80

در نتیجه، اینوزیتول 8° ، نوکلئوزوم را در گام‌های بزرگتر 20° – 10° جفت باز حرکت می‌دهد. مکانیزم چرخ ضامن‌دار پیشنهاد شده، تشکیل حلقه DNA را توضیح می‌دهد که منجر به گام‌های جابه‌جایی بزرگ و همچنین وسیله‌ای برای تبادل $H2A.Z$ با $H2A$ وابسته به ATP می‌شود. موتور، قسمت ثابت و دستگیره چند ظرفیتی اینوزیتول 8° سر خوردن بسیار پیش‌رونده را بدون رهاسازی و آرایش مجدد در مقیاس بزرگ (همانند ویرایش) امکان‌پذیر می‌سازد؛ در حالی که بقیه نوکلئوزوم را دست نخورده نگه می‌دارد.



شکل ۲-۵: مدل بازسازی نوکلئوزوم اینوزیتول 8° . معماری عملکردی اینوزیتول 8° با موتور (ATPase، قرمز)، دستگیره (کمپلکس Arp سبز) و گراپلر (نارنجی) نشان می‌دهد که سر خوردن پیش‌رونده نوکلئوزوم از طریق مکانیزم چرخ ضامن‌دار انجام می‌شود. تولید موقت حلقه‌ها بین موتور و دستگیره می‌تواند $H2A-H2B$ را برای ویرایش در معرض قرار دهد. اتصال مستقیم $H2A-H2B$ توسط حسگر گراپلر، می‌تواند ویرایش ویژه تغییرات یا انواع هیستون را تنظیم کند (از استرمان و همکاران، ۲۰۱۸).

محور اصلی برای هر یک از این خانواده‌های بازسازی‌کننده، دمین ATPase است که فعالیت DNA ترانسلوکازی را از طریق هیدرولیز ATP انجام می‌دهد. دمین‌های جانبی در ATPase و زیرواحدهای کمکی در بازسازی‌کننده‌های چند زیر واحدی، فعالیت ATPase را برای نتیجه دلخواه بازسازی نوکلئوزوم به دقت تنظیم می‌کند. از این رو نه تنها فرایندهای رونویسی نیازمند ظرفیت حرکت بازسازی‌کننده‌ها هستند، بلکه همه فرایندهای اساسی هسته‌ای به نحوی به توانایی مؤثر برای آزاد کردن DNA بستگی دارند.

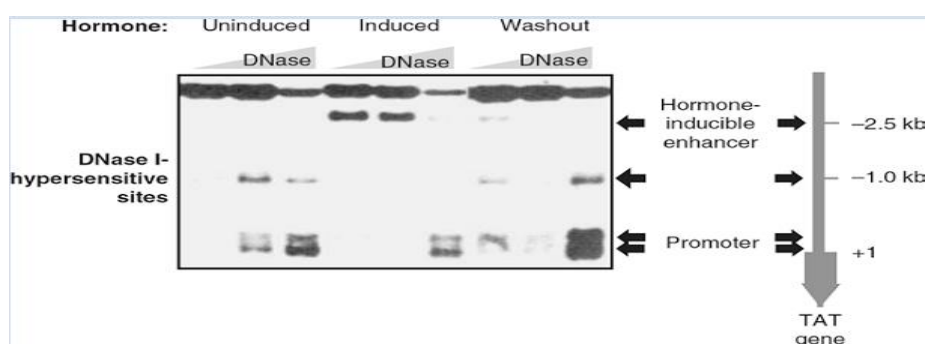
کادر ۱-۲: تعیین دسترسی DNA در الگوی کروماتین.

همانطور که در این فصل توضیح داده شد، دسترسی تنظیم شده به الگوی DNA، پیش نیاز بسیاری از فرایندهای آنزیمی هسته‌ای است. برعکس، ظهور مکان‌های قابل دسترسی در کروماتین، نواحی تنظیم یا پردازش فعال ژنومی را می‌تواند دقیقاً معین کند. به این منظور، هسته‌ها با غلظت‌های محدودی از نوکلئازها مانند DNase I یا نوکلئاز میکروکوکال تیمار می‌شود. در شرایط مناسب این آنزیم‌ها فقط DNA در معرض قرار گرفته را برش می‌دهند، ولی DNA پیچیده شده اطراف هیستون یا بسته‌بندی شده در ساختار نوکلئوزومی متراکم یا خاموش شده نظیر هتروکروماتین را برش نمی‌دهد. در اصل نواحی کروماتین باز که مکان‌های فوق حساس DNase نامیده می‌شود در ژن‌های تکی می‌توانند تعیین شوند. به عنوان مثال، بعد از القای هورمون، بازآرایی های کروماتین در مکان‌های اتصال هورمون هسته‌ای و تغییرات همزمان در پروموتور با ظهور مکان‌های فوق حساس DNA در طول زمان می‌تواند قابل رویت شود. به طور تجربی بعد از القاء هورمونی سلول‌ها در کشت، هسته‌ها جدا شده و با نوکلئازها تحت شرایط محدود تیمار می‌شوند؛ واکنش متوقف می‌شود، DNA جدا می‌شود، اندازه آن با آنزیم‌های محدودکننده خاص بیشتر کاهش پیدا می‌کند و در نهایت روی ژل آگارز جدا می‌شود. هیبریداسیون با کاوشگرهایی که نواحی مرزی ژن را دربرمی‌گیرد، مکان‌هایی که حمله نوکلئازی در آن‌ها اندازه اصلی قطعه محدودکننده را کاهش داده بود، آشکار کرد. مقایسه مکان‌های فوق حساس سلول‌های القاشده و القاشده، نه تنها اطلاعاتی در مورد جایگاه بالقوه مکان‌های تنظیمی می‌تواند فراهم کند و رد پاهای DNase را تولید کند، بلکه سرنخ‌هایی درباره سرعت بازشدن کروماتین که فرایند هسته‌ای مرتبط را امکان پذیر می‌سازد، به دست می‌دهد (شکل ۱-۲ مربوط به کادر).

در این میان شناسایی مکان‌های فوق حساس در مقیاس وسیع ژنوم می‌تواند دست یافتنی باشد. درحالی که مراحل آغازی حمله نوکلئاز محدود شده برای بازکردن آرایش کروماتین اساساً یکسان باقی می‌ماند، برای شناسایی مکان بعدی از فناوری‌های جدید توالی یابی با کارایی بالا استفاده می‌کنند. پس از برش با نوکلئاز، قطعات با اندازه‌های مختلف ظاهر می‌شود؛ درحالی که DNA بسته‌بندی شده در نوکلئوزوم به طور کلی قطعات بزرگتری تولید می‌کند، نواحی با کروماتین باز یا نواحی فاقد نوکلئوزوم بیشتر بریده می‌شوند، در نتیجه قطعات کوچک‌تری ایجاد می‌شوند. از این رو فراوانی موضعی بسیار زیاد قطعات کوچک‌تر نشانه‌هایی از مکان‌های فوق حساس در ژنوم است.

بهبود بیشتر آزمایش با ATAC-Seq (آزمایش کروماتین قابل دسترسی ترانسپوزاز با استفاده از توالی یابی) به دست آمد. به جای DNase I شکل موتاسیونی ترانسپوزاز، Tn5، برای قطعه قطعه کردن کروماتین استفاده شد. این آنزیم نه تنها DNA را می‌برد، بلکه قطعه DNA دورشته‌ای

حاصل را با آدپتورهای توالی‌یابی برچسب می‌زند که توسط PCR می‌تواند تقویت شود و تحت توالی‌یابی با کارایی بالا قرار گیرد. همچنین در این مورد تعداد خوانش‌ها برای یک ناحیه با میزان بازبودن آن ناحیه کروماتین، همبسته است. این روش، دارای این مزیت است که مواد آغازی خیلی کمتری در مقایسه با سایر روش‌های توصیف‌شده مورد نیاز است. به‌طور کلی این روش به زمان کمتری نیاز دارد؛ زیرا مراحل کمتری مورد نیاز است و تیتراسیون آنزیم پیچیده، ضروری نیست. این روش‌ها بینش اساسی در مورد نحوه انتشار کروماتین تحت شرایط فیزیولوژیک خاص را فراهم کرده‌است و بازخوانی مستقیم برای پویایی کروماتین ارائه می‌کند؛ اما در همه موارد، این رویکرد به نوکلئازهایی وابسته است که دارای ویژگی‌های ذاتی اگرچه ناچیز توالی DNA است. این امر می‌تواند منجر به برش مکان ترجیحی شود که صرفاً از طریق ساختار کروماتین کنترل نمی‌شود. این هشدارها باید هنگام تولید و تفسیر نتایج اندازه‌گیری پویایی‌های کروماتین، در نظر گرفته شود.



شکل ۱-۲ کادر: بررسی فوق حساس به DNaseI در یک ژن القاپذیر. سازماندهی کروماتین در عنصر تشدیدکننده پاسخ دهنده گلوکوکورتیکوئید یعنی ۲۵۰۰ جفت باز بالادست پروموتور ژن تیروزین آمینوترانسفراز در سلول‌های کبد بررسی شد. هسته‌های جداشده سلول‌ها با مقدار فزاینده DNase I برش داده شده‌اند. DNA ژنومی برش داده‌شده خالص می‌شود، با آنزیم محدودکننده شکسته می‌شود، با ژل الکتروفورز آگارز جدا می‌شود و با سادرن بلات بررسی می‌شود. مکان‌های فوق حساس به DNaseI با برچسب‌گذاری انتهایی غیرمستقیم قطعات محدودکننده از طریق هیبریداسیون یک کاوشگر کوچک رادیواکتیو (با فلش مشخص شده است) آشکار می‌شود. در حالت القاننده، دو مکان فوق حساس به DNaseI در پروموتور و در بالادست ۱۰۰۰ جفت‌باز وجود دارد. بعد از القای هورمون با کورتیکوسترون، نوکلئوزوم‌ها در عرض ۱۵ دقیقه در تشدیدکننده بازسازی می‌شوند. یک مکان جدید فوق حساس به DNaseI بالادست ۲۵۰۰ جفت بازی مکان شروع رونویسی پیدا شد. این موضوع با اتصال گیرنده‌های گلوکوکورتیکوئید و یک مجموعه پیچیده عوامل بازسازی مرتبط است. با حذف هورمون (شست‌وشو) عوامل جدا می‌شوند و نوکلئوزوم‌های متعارف در عرض ۱۵ دقیقه دوباره تشکیل می‌شوند و تشدیدکننده ۲۵۰۰ جفت بازی مربوط به فوق حساس به DNaseI ناپدید می‌شود (از بکر و ورکمن، ۲۰۱۳).

۲-۴- سرهم‌بندی نوکلئوزوم

در بخش بالا، فرایندهای بیرون راندن، حرکت یا جایگزینی هیستون‌ها در نوکلئوزوم‌ها و در نتیجه آزادسازی DNA برای دسترسی به آنزیم‌های پردازش‌کننده، بحث شد؛ اما فرایند معکوس برای سازماندهی مجدد الگوی طبیعی نوکلئوزومی و چشم‌انداز اپی‌ژنتیکی صحیح به همان اندازه مهم است. این ضرورت در زمان همانندسازی DNA بیشتر مشهود است. DNA تازه ساخته‌شده باید بسته‌بندی شود و از نظر اپی‌ژنتیکی به شیوه منظم و کامل علامت‌گذاری شود. در چنگال همانندسازی یک مکانیزم بسیار هماهنگ نه‌تنها یک نسخه یکسان DNA را الگوبرداری و تولید می‌کند، بلکه نوکلئوزوم‌های جلوی چنگال همانندسازی را برمی‌دارد و هیستون‌ها را در نوکلئوزوم‌های پشت‌سر (بعد از همانندسازی) دوباره سرهم‌بندی می‌کند، در پایان، روی دو رشته DNA یک علامت بی‌عیب و نقص اپی‌ژنتیکی حفظ می‌شود (هاموند و همکاران، ۲۰۱۷).

۲-۴-۱- انواع هیستون و چاپرون‌های هیستون

بیشتر هیستون‌ها طی فاز ۵ چرخه سلول تولید می‌شوند. این هیستون‌های متعارف جفت‌شده با همانندسازی DNA، منبعی برای بسته‌بندی مجدد کروماتید جدید فراهم می‌کند؛ اما تعدادی از انواع هیستون مستقل از همانندسازی DNA در هر زمان در چرخه سلول با وظایف متغیر در سروسامان دادن چشم‌انداز کروماتین تولید می‌شوند (فصل اول کتاب را ببینید) (تالبرت و هنی کوف، ۲۰۱۷). گنجاندن نوع H3 سانترومری (در مهره‌داران به نام پروتئین A سانترومر^۱ یا در گیاهان به نام CENH3 شناخته می‌شود) به جای H3 متعارف در یک نوکلئوزوم، ساختار اساسی کروماتین سانترومری را تشکیل می‌دهد. جایگزینی H3.1 متعارف انسانی با نوع بسیار مشابه H3.3 پیامدهای ظاهری اندکی دارد. این نوع هیستون، نقش اصلی را در ترمیم شکاف‌ها در کروماتین دارد که ناشی از اختلال نوکلئوزومی است که طی فرایندهای هسته‌ای اساسی رخ می‌دهد. چندین نوع H2A روی بیان ژن تأثیر دارند: H2A.Z و H2A.B در آغاز رونویسی نقش دارند؛ درحالی‌که به نظر می‌رسد ماکرو H2A در حیوانات و H2A.W در گیاهان با بی‌حرکی و خاموشی رونویسی مرتبط باشند. از این رو مانند DNA که دارای انواع باز نظیر متیل سیتوزین است، همچنین نوکلئوزوم‌ها سطح اطلاعات‌شان را با گنجاندن انواع هیستون‌های متعارف می‌توانند تغییر دهند. این موضوع یک لایه اضافی انعطاف‌پذیری و پیچیدگی برای پردازش اپی‌ژنتیک فراهم می‌کند؛ زیرا انواع هیستون‌ها روی پایداری نوکلئوزوم و علامت‌گذاری با تغییردهنده‌های کروماتین می‌تواند اثر بگذارد.

¹. Centromere protein A(CENPA)

برای سرهم‌بندی هیستون‌ها در نوکلئوزوم‌ها، چاپرون‌های هیستون نیاز است (کونینگ و همکاران، ۲۰۰۷). در حقیقت هنگامی که هیستون‌ها در قدرت یونی فیزیولوژیک با DNA مخلوط می‌شوند آن‌ها رسوب می‌کنند، مگر اینکه چاپرون‌ها به هیستون‌ها کمک کنند تا به‌صورت مناسب تا بخورند و از ایجاد برهم‌کنش‌های غیراختصاصی بار مثبت‌شان جلوگیری کنند. چاپرون‌های هیستونی بسیار حفاظت‌شده، برای همراهی کردن و قراردادن هیستون‌ها در کروماتین و برای ذخیره‌سازی هیستون، ضروری هستند. تعدادی چاپرون مختلف برای فرایندهای سلولی و مسیرهای سرهم‌بندی هیستون وجود دارد. هیستون‌های تازه ساخته‌شده، قبل از ورود به هسته، در سیتوزول به یک‌سری چاپرون‌ها متصل می‌شوند. هنگامی که کمپلکس‌های هیستون قابل حل وارد هسته می‌شود، عامل سرهم‌بندی کروماتین^۱، سرهم‌بندی هیستون در پشت چنگال همانندسازی را هدایت می‌کند؛ درحالی‌که کمپلکس تنظیم‌کننده A هیستون^۲ سرهم‌بندی داخل کروماتین را مستقل از ساختن DNA هدایت می‌کند (پایین را ببینید). در انسان عامل سرهم‌بندی کروماتین، H3.1 و H3.2 متعارف را طی همانندسازی قرار می‌دهد، درحالی‌که تنظیم‌کننده A هیستون نوع H3.3 را در سرتاسر چرخه سلول قرار می‌دهد. از این‌رو هر فرایندی در سلول که نیازمند سرهم‌بندی هیستون است از قابلیت چاپرونی کمپلکس‌های ویژه استفاده می‌کند. شکل ۲-۶ هویت و مکان‌های عمل این عوامل مهم در پویایی کروماتین را به‌طور مختصر نشان می‌دهد.

۲-۴-۲- چنگال همانندسازی: همچنان معمای اصلی در اپی ژنتیک

برجسته‌ترین همکاری بین DNA، هیستون‌ها، چاپرون‌های هیستون، تغییردهنده‌های کروماتین و برای مثال ماشین همانندسازی را در چنگال همانندسازی می‌بینیم (شکل ۲-۷) (بلوش و وایت هاوس، ۲۰۱۷؛ هاموند و همکاران، ۲۰۱۷). عبور DNA ژنومی از طریق سوراخ کوچک در هلیکاز همانندسازی، باید منجر به رهاسازی موقت همه پروتئین‌های متصل‌شونده به DNA، از جمله جداشدن نوکلئوزوم‌ها و از این‌رو جدا شدن اطلاعات اپی ژنتیک مبتنی بر نوکلئوزوم و هیستون از DNA شود. در نهایت، نوکلئوزوم‌های قدیمی از جمله بسیاری از انواع هیستون و تغییرات هیستون‌ها، سریعاً روی رشته‌های پیشرو و پیرو تازه ساخته‌شده مجدداً سرهم‌بندی می‌شوند. شکاف‌های بین نوکلئوزوم‌های قدیمی با نوکلئوزوم‌هایی که متشکل از هیستون‌های متعارف تازه ساخته شده است، پرمی‌شود. چاپرون‌های هیستون از این فرایند پویا پشتیبانی می‌کنند. پشت چنگال همانندسازی، قرار گرفتن نوکلئوزوم‌های جدید به واسطه چاپرون هیستون (عامل سرهم‌بندی کروماتین ۱) انجام

¹. Chromatin assembly factor 1 (CAF1)

². Histone regulator A (HIRA) complex

می‌شود که با گیره همانندسازی یعنی آنتی‌ژن هسته‌ای سلول در حال تکثیر^۱ همدست می‌شوند و با رپلیزوم حرکت می‌کند. عامل سرهم‌بندی کروماتین ۱ یک کمپلکس سه‌تایی است که مسئول سرهم‌بندی نوکلئوزوم‌های H3 متعارف جدید در پشت چنگال همانندسازی است (شکل ۲-۷). عملکرد ضد خاموشی^۲ با اتصال به سطح مشترک هومودایمیریزاسیون H3 با H3-H4 برهم‌کنش انجام می‌دهد و فقط دایمرها نه تترامر را می‌تواند به عامل سرهم‌بندی کروماتین ۱ عرضه کند. یک مولکول تکی عامل سرهم‌بندی کروماتین ۱، به دو دایمر H3-H4 یا یک تترامر^۳ (H3-H4) متصل به هم می‌تواند متصل شود که نشان می‌دهد عامل سرهم‌بندی کروماتین ۱ قادر به سرهم‌بندی و قرار دادن تترامرهای^۲ (H3-H4) روی DNA است. از این‌رو نوکلئوزوم‌های قدیمی ممکن است به‌طور تصادفی از اجزای دایمرشان در پشت چنگال همانندسازی جدا شوند و دوباره سرهم‌بندی شوند که این امر منجر به تشکیل اکتامر هیستون می‌شود که دارای هر دو هیستون‌های جدید و قدیم است. ولی هیستون‌های جدید H3 و H4 ممکن است دارای علائم اپی‌ژنتیک باشند که قبل از سرهم‌بندی کروماتین در چنگال همانندسازی اضافه شود. تصور می‌شود که در مونومیتیل‌اسیون H3K9 و استیل‌اسیون H4K5 و H4K12 عموماً این قسمت‌ها به ترتیب به‌وسیله آنزیم‌های تغییردهنده SetDB1 و هیستون‌استیل ترانسفرازها^۱ در کمپلکس با چاپرون‌های هیستون اضافه می‌شود (به‌عنوان مثال عامل سرهم‌بندی کروماتین ۱ یا عملکرد ضدخاموشی^۱).

وقتی که کروماتین سرهم‌بندی شده بود، این علائم استیل‌اسیون ممکن است به‌وسیله داستیل‌از برداشته شود و در مورد هتروکروماتین با علائم متضاد متناظر نظیر H3K9me3 جایگزین شود. ولی در حیوانات نوکلئوزوم‌های متعارف دارای H3.1 تقریباً از همه تترامرهای^۲ (H3.1-H4) قدیم و جدید تشکیل شده است. این موضوع نشان می‌دهد که یا تترامرهای قدیمی دست‌نخورده به پشت چنگال همانندسازی منتقل می‌شوند، یا به‌طور موقت جدا می‌شوند و به نوعی دوباره سرهم‌بندی می‌شوند که از قراردادن دایمرهای جدید جلوگیری می‌کنند. انتقال تترامرها یا دایمرها از عرض چنگال همانندسازی به عامل سرهم‌بندی کروماتین ۱ از طریق عملکرد ضدخاموشی^۱ یا شاید با مساعدت FACT (رونویسی کروماتین را تسهیل می‌کند) مستقیماً روی DNA اتفاق می‌افتد. FACT ممکن است از طریق برهم‌کنش با کمپلکس CMG هلیکاز همانندساز (که شامل CDC45-MCM2-7- است) GINS است، پلیمراز α و پروتئین همانندسازی^۳ متصل‌شونده به تکرش‌های، به اختلال نوکلئوزوم و بازیابی کردن هیستون کمک کند. MCM2 یک پلتفرم اتصال برای تترامرهای H3-H4 خارج شده، فراهم می‌کند و ممکن است مستقیماً بازیابی کردن آن‌ها را با همکاری FACT یا به‌عنوان

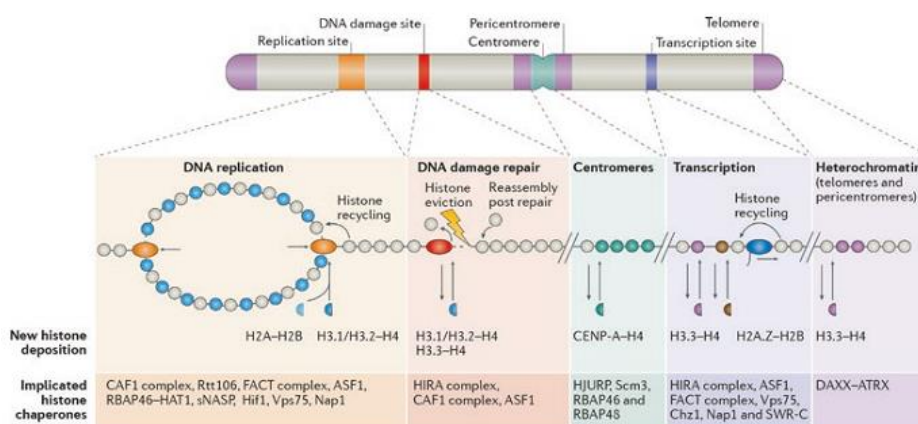
^۱. Proliferating cell nuclear antigen (PCNA)

^۲. Anti-silencing function 1 (ASF1)

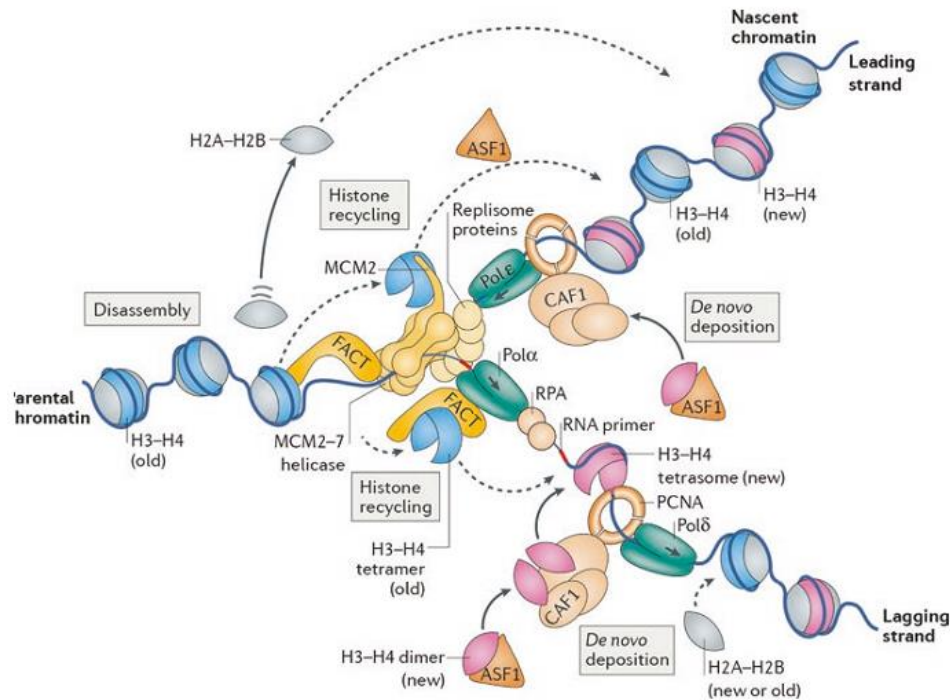
^۳. Replication protein A (RPA)

دایمرهایی با عملکرد ضدخاموشی^۱، تسهیل کند که تترامرهای H3-H4 را می‌شکنند و یک کمپلکس همراه چاپرون با MCM2 تشکیل می‌دهد.

پرسش بزرگ هنوز این است که چگونه بعد از عبور چنگال همانندسازی و سرهم‌بندی نوکلئوزوم‌های جدید و قدیم، چشم انداز اپی ژنتیک موضعی دوباره ایجاد می‌شود (سینگ، ۲۰۱۴). یک مکانیزم الگویی، باید هیستون‌های جدید با تغییرات ضروری را همانندسازی و به‌طور مناسب الگو کند. با توجه به نزدیک هم بودن هیستون‌های والدینی، این‌ها می‌توانند به‌عنوان لنگرها و الگوهایی برای خوانندگان، نویسندگان و پاک‌کنندگان عمل کنند تا هیستون‌های جدید به‌درستی برچسب گذاری شوند (فصل اول کتاب را ببینید). با توجه به الگوهای پیچیده تغییرات مشاهده‌شده در مکان‌های معین کروماتین عملکردی، قطعاً این پرسش طرح می‌شود که دقیقاً کدام (چگونه) مکانیزم بیوشیمیایی قادر به دوباره ساختن دقیق این دستورالعمل‌ها است. درک بهتر این فرایند، مطمئناً یک چالش بزرگ و بلندپروازانه در تحقیقات اپی ژنتیک را آشکار می‌کند.



شکل ۲-۶: مروری بر مکانیزم‌های قراردادن هیستون. هیستون‌های تازه ساخته شده از طریق مکانیزم‌های عمل موضعی و فراگیر به داخل کروماتین وارد می‌شوند. شبکه‌ای از چاپرون‌های ویژه هیستون، تحویل و قراردادن هیستون را کنترل می‌کند. این شکل یک نمای کلی مسیرهای مستقل از همانندسازی و جفت‌شده با همانندسازی را ارائه می‌دهد که به واردکردن هیستون‌های متعارف به‌تازگی ساخته شده و انواع هیستون‌های جایگزین، همراه با بازیابی کردن هیستون والدین نیاز دارند. چاپرون‌های هیستونی که در هر فرایند درگیر می‌شوند در پایین فهرست شده‌اند (از هاموند و همکاران، ۲۰۱۷).



شکل ۲-۷: بازیابی هیستون والدین طی همانندسازی DNA. هیستون‌های والدین خارج شده به‌طور تصادفی، به سمت رشته‌های DNA دختر جدا می‌شوند. هنوز مشخص نشده که آیا سایر اجزاء ماشین همانندسازی DNA دارای فعالیت چاپرون هیستون هستند و اینکه آیا قراردادن هیستون‌های جدید و قدیم به‌وسیله مسیرهای جداگانه رخ می‌دهد یا خیر (جزئیات را در متن ببینید) (از هاموند و همکاران، ۲۰۱۷).

پیام کلیدی این فصل که باید به‌خاطر سپرد.

- سرهم‌بندی هیستون‌ها در نوکلئوزوم‌ها، تحت تأثیر توالی‌های DNA پیچیده‌شده به دور هسته پروتئین است. توالی‌های معین، مساعد خم‌شدن DNA هستند درحالی‌که توالی‌های دیگر مناسب برای سرهم‌بندی نوکلئوزوم نیستند. از این‌رو چشم‌انداز کروماتین تا حد زیادی از طریق توالی ژنوم تعیین می‌شود.
- عناصر DNA، کروماتین را در فضای سه‌بعدی هسته سازماندهی می‌کنند. عناصر عایق / مرزی از اثرات دوربرد هتروکروماتین سرکوب‌کننده جلوگیری می‌کند اما می‌تواند به‌صورت موضعی برهم‌کنش عناصر تنظیمی سیس را کنترل کند.
- در فرایندهایی نظیر رونویسی که DNA به‌عنوان الگو است، توسط یک آبشار به‌خوبی کنترل شده بازسازی کروماتین آغاز می‌شود. عوامل رونویسی پیشگام بدون مهارشدن توسط ساختار

نوکلئوزومی، توالی را شناسایی می‌کند و تغییردهنده‌های هیستون که علائم فعال‌کننده را تولید می‌کنند، به‌طور موضعی جذب می‌کنند. کمپلکس‌های بازسازی‌کننده کروماتین مبتنی بر ATP، یک اختلال موضعی گسترده در نوکلئوزوم‌ها و جایگزینی جزئی هیستون‌های متعارف با انواع مختلف هیستون‌ها ایجاد می‌کنند. به همین ترتیب کروماتین باز می‌تواند از طریق پلیمرها برای ساختن محصولات مورد نیاز پردازش شود.

- بعد از همانندسازی DNA یا بعد از اجرای سایر فرایندهای اصلی هسته‌ای، ساختار کروماتین باید به‌طور کامل دوباره ایجاد شود. این امر نه‌تنها به سرهم‌بندی هیستون‌ها در ساختار نوکلئوزوم نیاز دارد، بلکه به حفظ چشم‌انداز اپی ژنتیکی مناسب تعریف‌شده با تغییرات هیستون، الگوهای متیلاسیون DNA و موارد دیگر نیز نیاز دارد. حمل و نقل، ذخیره‌سازی و سرهم‌بندی موضعی هیستون‌ها در نوکلئوزوم‌ها از طریق چاپرون‌های هیستونی تقویت می‌شود. در همکاری با عوامل حاکم بر فرایندهای اساسی هسته‌ای و پردازش اپی ژنتیک، آن‌ها تضمین می‌کنند که الگوی کروماتین به‌درستی بازیابی شود.

منابع

- Adelman K, Lis JT (2012) Promoter-proximal pausing of RNA polymerase II: emerging roles in meta- zoans. *Nat Rev Genet* 13(10):720-731. <https://doi.org/10.1038/nrg3293>.
- Becker PB, Workman JL (2013) Nucleosome remodeling and epigenetics. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 5(9). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a017905>
- Bellush JM, Whitehouse I (2017) DNA replication through a chromatin environment. *Philos Trans R Soc Lond Ser B Biol Sci* 372(1731). <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0287>.
- Cairns BR (2009) The logic of chromatin architecture and remodelling at promoters. *Nature* 461(7261):193-198. <https://doi.org/10.1038/nature08450>.
- Chen D, Lei EP (2019) Function and regulation of chromatin insulators in dynamic genome organiza- tion. *Curr Opin Cell Biol* 58:61-68. <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2019.02.001>.
- Clapier CR, Cairns BR (2009) The biology of chromatin remodeling complexes. *Annu Rev Biochem* 78:273-304. <https://doi.org/10.1146/annurev.biochem.77.06.2706.153223>.
- Cramer P (2019) Eukaryotic transcription turns 50. *Cell* 179(4):808-812. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2019.09.018>.
- De Koning L, Corpet A, Haber JE, Almouzni G (2007) Histone chaperones: an escort network regulat- ing histone traffic. *Nat Struct Mol Biol* 14(11):997-1007. <https://doi.org/10.1038/nsmb1318> Eustermann S.
- Schall K, Kostrewa D, Lakomek K, Strauss M, Moldt M, Hopfner KP (2018) Structural basis for ATP-dependent chromatin remodelling by the INO80 complex. *Nature* 556(7701):386- 390. <https://doi.org/10.1038/s41586-018-0029-y>.
- Gaertner B, Zeitlinger J (2014) RNA polymerase II pausing during development. *Development* 141(6):1179-1183. <https://doi.org/10.1242/dev.088492>.
- Hammond CM, Stromme CB, Huang H, Patel DJ, Groth A (2017) Histone chaperone networks shap- ing chromatin function. *Nat Rev Mol Cell Biol* 18(3):141-158. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.159>.
- Hughes AL, Rando OJ (2014) Mechanisms underlying nucleosome positioning in vivo. *Annu Rev Biophys* 43:41-63. <https://doi.org/10.1146/annurev-biophys-051013-023114>.
- King HA, Trotter KW, Archer TK (2012) Chromatin remodeling during glucocorticoid receptor regu- lated transactivation. *Biochim Biophys Acta* 1819(7):716-726. <https://doi.org/10.1016/j.bbarm.2012.02.019>.
- Lorch Y, Kornberg RD (2017) Chromatin-remodeling for transcription. *Q Rev Biophys* 50:e5. <https://doi.org/10.1017/S003358351700004X>.
- Misteli T, Soutoglou E (2009) The emerging role of nuclear architecture in DNA repair and genome maintenance. *Nat Rev Mol Cell Biol* 10(4):243-254. <https://doi.org/10.1038/nrm2651>.
- Papamichos-Chronakis M, Peterson CL (2013) Chromatin and the genome integrity network. *Nat Rev Genet* 14(1):62-75. <https://doi.org/10.1038/nrg3345>.
- Parmar JJ, Padinhateeri R (2020) Nucleosome positioning and chromatin organization. *Curr Opin Struct Biol* 64:111-118. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2020.06.021>.

- Pisignano G, Pavlaki I, Murrell A (2019) Being in a loop: how long non-coding RNAs organise genome architecture. *Essays Biochem* 63(1):177-186. <https://doi.org/10.1042/EBC20180057>.
- Rohs R, Jin X, West SM, Joshi R, Honig B, Mann RS (2010) Origins of specificity in protein-DNA recognition. *Annu Rev Biochem* 79:233-269. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem--060408-091030>.
- Singh J (2014) Role of DNA replication in establishment and propagation of epigenetic states of chromatin. *Semin Cell Dev Biol* 30:131-143. <https://doi.org/10.1016/j.semedb.2014.04.015>
- Struhl K, Segal E (2013). Determinants of nucleosome positioning. *Nat Struct Mol Biol* 20:267-273
- Sundaramoorthy R (2019) Nucleosome remodelling: structural insights into ATP-dependent remodeling enzymes. *Essays Biochem* 63(1):45-58. <https://doi.org/10.1042/EBC20180059>.
- Talbert PB, Henikoff S (2017) Histone variants on the move: substrates for chromatin dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol* 18(2):115-126. <https://doi.org/10.1038/nrm.2016.148>.
- Valenzuela L, Kamakaka RT (2006) Chromatin insulators. *Annu Rev Genet* 40:107-138. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.39.073003.113546>.

فصل سوم
حافظه سلولی

مطالبی که در این فصل یاد خواهید گرفت

هویت سلول‌ها در یک جاندار تا حد زیادی با پروفایل رونویسی خاص آن‌ها تعریف می‌شود. طی تقسیم سلول این پروفایل‌ها باید به‌طور صحیح به سلول‌های دختری به ارث برسند تا حفظ ساختار و عملکرد سلول در دودمان سلول تضمین شود. در اینجا یاد خواهید گرفت که چگونه دو گروه از تنظیم‌کننده‌های کروماتین یعنی گروه پلی‌کومب^۱ و گروه تری‌توراکس^۲ به شیوه‌ای متضاد برای حفظ حالت‌های بیان ژن افتراقی عمل می‌کنند. اعضای گروه پلی‌کومب در کمپلکس‌های چندپروتئینی بزرگ برای تغییر هیستون‌هایی با علامت سرکوب‌کننده، همکاری می‌کنند که منجر به ایجاد دمین‌های کروماتین فشرده می‌شود. برعکس پروتئین‌های گروه تری‌توراکس با بازکردن ساختارهای نوکلئوزومی و ایجاد تغییرات هیستون فعال با دمین‌های سرکوب‌شده، مقابله می‌کنند. پروتئین‌های گروه پلی‌کومب و گروه تری‌توراکس از نظر تکاملی بسیار حفاظت‌شده هستند و فرایندهای متنوعی مانند هویت سلول‌های بنیادی در تکوین پستانداران تا فرایند گل دادن در گیاهان را کنترل می‌کنند.

۳-۱- حفظ کردن سرنوشت سلولی

جانداران جانوری از طریق یک‌سری ویژگی‌های سلولی متوالی که با فازهای رشد درهم آمیخته می‌شود، به اندازه و پیچیدگی بدن خود می‌رسند. طی مراحل اولیه جنینی، الگوی بدن مشخص می‌شود، لایه‌های زایا ایجاد می‌شود و مراحل اولیه تشکیل اندام‌ها معین می‌شود. متعاقباً طی فرایند تمایز، سرنوشت‌های تکوینی برای تولید ویژگی‌های مورفولوژیکی ساختارهای اندام و اعمالی که نیازهای بقا و تولیدمثل جاندار خاص را انجام می‌دهد، اجرا می‌شود. همچنین طی تمام این فرایندهای تکوین، سلول‌ها به دفعات تقسیم می‌شوند، طی تقسیم سلول، لازم است سرنوشت‌های تکوینی^۳ که قبلاً ایجاد شده، حفظ شود. تا حد زیادی سرنوشت‌ها و هویت‌های سلول‌ها در الگوهای افتراقی بیان ژن نوشته می‌شود. از این‌رو، پس از هر تقسیم سلولی، این شبکه‌های رونویسی منحصربه‌فرد، برای حفظ هویت سلولی باید دوباره ایجاد شوند. با توجه به بازآرایی‌های گسترده مولکولی و سلولی مشاهده شده طی فرایندهای تکثیر ژنوم و تقسیم سلولی که بیشتر پروتئین‌های تنظیمی و عوامل کروماتین از DNA جدا می‌شوند، این اتفاق کار بی‌اهمیتی نیست. با این حال، مکانیزم‌های پیچیده برای حفظ

^۱. Polycomb group (PcG)

^۲. Trithorax group (TrxG)

^۳. سرنوشت‌های تکوین از طریق محدودیت‌های تکوینی متوالی ایجاد می‌شود اولین موارد، اختصاص به لایه‌های زایا (اکتودرم، اندودرم؛ و مزودرم) دارد متعاقباً، سلول‌ها اطلاعاتی را دریافت می‌کنند تا تبدیل به بخشی از یک اندام یا بافت خاص شوند؛ و نقش ساختاری یا عملکردی ویژه‌ای را ایفا می‌کنند هر مرحله از این تصمیمات باید به‌خاطر سپرده شوند؛ و به درستی حفظ شوند.

هویت‌های سلولی در پی این فرایندها تکامل پیدا کردند که تضمین می‌کند تصمیمات تکوینی به درستی حفظ شوند؛ به عبارت دیگر به‌نظر می‌رسد سلول‌ها، حافظه سلولی دارند. چگونه حافظه سلول‌ها می‌تواند آشکار شود؟ آزمایش‌های پیوندزدن نشان داده‌اند که سلول‌ها و بافت‌ها بسته به حالت برنامه‌ریزی شدنشان وقتی به محل خارجی منتقل می‌شوند واکنش متفاوتی دارند. قبل از تعیین هویت ویژه، سلول‌های پیوندی اغلب با هویت همسایگان خارجی جدیدشان سازگار می‌شوند. برعکس، هنگامی که پس از تعیین شدن هویت، پیوند زده شود، آن‌ها هویت اصلی خود را حتی وقتی که در معرض یک محیط تکوینی جدید قرار می‌گیرند، حفظ می‌کنند. این موضوع نشان می‌دهد که دوره خاصی در تکوین یک جاندار وجود دارد که در آن برنامه‌های سلولی ثابت و غیرقابل برگشت می‌شوند (وال پرت و همکاران، ۲۰۱۵).

در مگس سرکه، هنگام دگردیسی، سلول‌های لارو حذف می‌شوند و سلول‌های پیش‌ساز بالغ طی مرحله شفیرگی تمایز پیدا می‌کنند و اندام‌ها و ضمایم مگس بالغ را به‌وجود می‌آورند. این فرایند توسط هورمون ۲۰- هیدروکسی اکدیسون (اکدیسون) راه‌اندازی می‌شود. هورمون، یک آبشار بسیار هماهنگ حوادث رونویسی و پس از رونویسی را القا می‌کند که منجر به تمایز سلول‌های پیش‌ساز بالغ (انگاشتی) می‌شود. به‌عنوان مثال، تبدیل سلول‌های صفحه انگاشتی^۱ از نظر مورفولوژیکی خنثی است که ساختارهای کوتیکولی خارجی بسیار تخصصی مانند بال‌ها، پاها یا چشم‌ها را ایجاد می‌کنند. همزمان، سلول‌ها و بافت‌های لارو که بخشی از مگس بالغ محسوب نمی‌شوند، برای مرگ علامت‌گذاری می‌شوند و طی دگردیسی هیستولیز می‌شوند. یک آزمایش کلاسیک توسط هادورن و همکارانش نشان داد که صفحات انگاشتی، برنامه تعیین‌شده خود را حفظ می‌کنند و به یاد می‌آورند (هادورن، ۱۹۶۸). خوشه‌های سلول‌ها که نشان‌دهنده حالت اولیه صفحات انگاشتی هستند در مراحل اولیه جنین‌زایی تعریف می‌شوند. طی مراحل لاروی و متعاقباً جنینی، این خوشه‌ها از نظر اندازه، رشد می‌کنند ولی تمایز پیدا نمی‌کنند. تنها هنگام دگردیسی، سلول‌ها برنامه‌های رونویسی تعریف‌شده اولیه خود را اجرا می‌کنند و به ساختارها و ضمایمی که باعث ایجاد کوتیکول خارجی مگس می‌شوند، تمایز پیدا می‌کنند. قطعات صفحات انگاشتی را به مایع شکم مگس بالغ (همولنف) می‌توان پیوند زد که همانند یک آنکوباتور عمل می‌کند و به صفحات امکان می‌دهد از نظر اندازه، رشد کنند ولی تمایز پیدا نکنند.

این فرایند طی هفته‌ها و ماه‌ها می‌تواند تکرار شود و سلول‌های صفحه انگاشتی را مجبور به تقسیم‌های سلولی بیشتری نسبت به حالتی که آن‌ها طی تکوین نرمال یک مگس انجام می‌دهند، می‌کنند. برای مشاهده اینکه آیا سلول‌ها در این شرایط نیز هویت خود را حفظ کرده‌اند، آن‌ها را قبل

¹. Imaginal disc

از دگردیسی به لارو پیوند می‌زنند. بعد از دگردیسی، مگس بالغ در همولنف خود دارای بافت کوتیکولی تمایز یافته با همان هویت صفحه انگاشتی اصلی است. این موضوع به وضوح نشان می‌دهد که سلول‌ها حافظه برنامه‌ریزی شده خود را حتی هنگامی که در یک محیط خارجی و تحت تقسیمات سلولی زیادی قرار می‌گیرند، حفظ می‌کنند.

جالب است که هادورن و همکارانش موارد نادری را مشاهده کردند که در آن قطعات صفحه انگاشتی پیوند زده شده، پس از تمایز، ساختار کوتیکولی‌ای غیر از آنچه در ابتدا تعیین شده بود، ایجاد کردند. از این رو، همچنین سلول‌ها می‌توانند فراموش کنند و سرنوشت را تغییر دهند. آن‌ها این پدیده را فراتعیین^۱ نامیدند. این تغییرات سرنوشت، اغلب فنوتیپ‌هایی را تقلید می‌کنند که در جهش یافته‌های هومئوتیک مشاهده شده بودند. اینها موتاسیون‌هایی در ژن‌های اصلی تنظیمی هستند که برای ایجاد هویت‌های قطعه قطعه مناسب در پرواز لازم است (لوپس، ۱۹۷۸). به این ترتیب، استدلال می‌شود که حفظ حافظه سلولی اساساً با حفاظت صحیح الگوهای بیانی ویژه تنظیم کننده های اصلی تکوین مرتبط است.

۳-۲- سیستم گروه تری توراکس / گروه پلی کومب که حافظه سلولی را حفظ می‌کنند

مطالعات هادورن، ژنتیک‌دانان موتاسیون‌هایی از مگس‌ها را شناسایی کردند که فنوتیپ‌های هومئوتیک متعدد را نشان می‌دهند. در این میان، رادلوسین و همسرش موتاسیونی را مشخص کردند که آن‌ها را پلی کومب^۲ نامیدند، آن‌ها نشان دادند که پلی کومب، تنظیم کننده‌های اصلی هومئوتیک در کمپلکس بی توراکس^۳ را کنترل می‌کند (لوپس، ۱۹۷۸). در این جهش یافته، ساختارهای کوتیکولی دومین و سومین پا شبیه اولین پا شدند. با توجه به اینکه به‌طور معمول در نرها تنها جفت پای اول شانه‌های جنسی را به نمایش می‌گذارد، این حقیقت که در جهش یافته‌ها همه پاها شبیه جفت پای اول شده‌اند، اشاره به عدم تنظیم هویت قطعه قطعه اصلی تحمیل شده به وسیله تنظیم کننده‌های اصلی هومئوتیک دارد. به مرور زمان تعدادی از ژن‌های دیگر با فنوتیپ مشابه جداسازی و به عنوان ژن‌های گروه پلی کومب طبقه‌بندی شدند. فنوتیپ آن‌ها نشان داد که همه آن‌ها به عنوان سرکوب کننده‌های تنظیم کننده‌های اصلی هومئوتیک عمل می‌کنند. جالب توجه است که الگوی اولیه بیان ژن هومئوتیک مختل نشد و فقط مراحل بعدی مختل شدند (استرال و اکام، ۱۹۸۵).

این موضوع نشان می‌دهد که محصولات گروه پلی کومب مسئول ایجاد الگوهای بیان ویژه قطعه تنظیم کننده‌های اصلی نبودند، بلکه مسئول حفظ بیان مناسب آن‌ها برای بقیه تکوین هستند.

^۱. Transdetermination

^۲. Polycomb

^۳. Bithorax. Complex. (BX-C)

علاوه بر این، موتاسیون‌ها همچنین در ژن‌های گروه پلی‌کومب میزان رویدادهای فراتعیین مشاهده شده در آزمایش‌های پیوند را افزایش داند، این مشاهده نشان می‌دهد که این گروه بخشی از سیستم حفظ هویت‌های سلولی است (گروسین کلاوس و پارو، ۲۰۱۴).

در مگس سرکه، موتاسیون‌هایی نظیر تری‌توراکس^۱ شناسایی شد که موتاسیون‌های هومئوتیک، از دست دادن عملکرد را تقلید می‌کنند. بررسی ژنتیکی بیشتر، همچنین وجود یک گروه کامل از ژن‌ها را آشکار کرد که به عنوان سرکوب‌کننده اضافی شانه‌های جنسی یافت شده در جهش‌یافته‌های گروه پلی‌کومب عمل می‌کند. موتاسیون‌ها در این ژن‌ها، تبدیل‌های فنوتیپی ساختارهای قطعه قطعه را در مقایسه با تبدیل‌های هومئوتیک مشاهده شده در جهش‌یافته‌های گروه پلی‌کومب، به شیوه متضاد، معکوس کرد یا تغییر جهت داد. ژن‌های متعلق به این طبقه، گروه تری‌توراکس نامیده می‌شوند و به نظر می‌رسد محصولات آن‌ها به عنوان یک ضد سرکوب کننده عمل می‌کنند که فعالیت بیان صحیح تنظیم‌کننده‌های اصلی را تضمین می‌کنند (کینگستون و تام کوهن، ۲۰۱۴).

در حالی که این دو گروه در ابتدا به عنوان تنظیم‌کننده‌های ژن‌های هومئوتیک در مگس سرکه شناسایی شدند، در مورد هر دو ژن یعنی گروه پلی‌کومب و گروه تری‌توراکس متعاقباً دریافتند از نظر تکاملی در گیاهان و جانوران بسیار حفاظت شده هستند. در ابتدا با استفاده از شباهت مولکولی، اعضای دو گروه در ژنوم‌های تعدادی از موجودات مدل شناسایی شدند. به نوعی این موضوع عجیب نیست؛ زیرا حافظه سلولی یک نیاز ذاتی برای جاندار پرسلولی است. با این حال، بررسی‌های بعدی برنامه تنظیمی بسیار گسترده‌تری را برای گروه پلی‌کومب پیدا کرد. آن‌ها نه تنها برای حفظ سرنوشت‌های تکوین مورد نیاز هستند، بلکه در تعداد زیادی از فرایندهای کنترل رونویسی دیگر که نیاز به حفظ سرکوب ژن پایدار و موروثی دارند، استفاده می‌شوند.

نمایندگان گروه تری‌توراکس از نظر مولکولی و عملکردی یک گروه نسبتاً متنوع هستند و مشخص شد که نه تنها برای بسیاری از فرایندهای رونویسی فعال بلکه برای سایر فرایندهای هسته‌ای که نیاز به فعال‌سازی یا عدم تراکم کروماتین دارند، نیز مورد نیاز هستند. عوامل گروه پلی‌کومب و گروه تری‌توراکس تصمیم‌هایی برای تنظیم ژن را شکل نمی‌دهند، این عمل (تنظیم ژن) بیشتر توسط عوامل رونویسی که به عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی عمل می‌کنند، اجرا می‌شود؛ اما در بسیاری از موارد این عوامل رونویسی خاموش می‌شوند یا پس از پیام آغازی خود، وظایف جدید را انجام می‌دهند. حفظ بیشتر حالت سرکوب شده یا فعال و انتقال این اطلاعات به نسل بعدی سلول با عمل ترکیبی گروه پلی‌کومب و گروه تری‌توراکس حاصل می‌شود. از این رو حافظه سلولی می‌تواند به عنوان مکانیزمی برای حفظ حافظه رونویسی درک شود. حفظ حالت رونویسی در غیاب محرک اولیه، یک

¹. *Trithorax*

وظیفه اپی ژنتیکی کلاسیک است که از طریق این عوامل انجام می شود. در واقع مطالعات بعدی با استفاده از مزیت های فنی متناظر جانداران مختلف مدل تحت بررسی، طبقه ای از محصولات ژن با فعالیت های عمده در شکل دهی و تنظیم ساختار و عملکرد کروماتین در هسته را آشکار کرد.

۳-۳- ویژگی های بیوشیمیایی و عملکرد مولکولی پروتئین های گروه پلی کومب /

گروه تری توراکس

ویژگی های مولکولی ژن ها و محصولات گروه پلی کومب و گروه تری توراکس بینش عمیقی در مورد نقش خاص آن ها در هسته ارائه می دهد. تحقیقات عمومی کروماتین، نقش مهم هیستون ها را نه تنها به عنوان ماده بسته بندی ژنوم، بلکه به عنوان یک حامل اضافی اطلاعات شناسایی کرده است (فصل اول را ببینید). هیستون ها یک الگوی پیچیده از تغییرات کوالانسی اسیدهای آمینه خود را به نمایش می گذارند. مشخص شده که تغییرات خاص هیستون با حالت های رونویسی تعریف شده مرتبط است، این موضوع پلات فرمی برای کنترل ویژه ژن فراهم می کند و بنابراین علاوه بر اطلاعات ژنتیکی رمزگذاری شده در توالی DNA یک رمز آشکار تولید می کند. ماشین پیچیده متشکل از عوامل کروماتین برای نوشتن، خواندن و در صورت لزوم برای پاک کردن علایم هیستون در طول سال ها آشکار شد (فصل اول را ببینید). به طور شگفت انگیزی در بین این به اصطلاح نویسنده ها، خوانندگان و پاک کننده های اطلاعات اپی ژنتیک، مشخص شد بسیاری از آن ها توسط ژن های گروه پلی کومب و گروه تری توراکس رمزگذاری شده اند.

نتیجه جالب دیگر کشف این موضوع بود که ژن های گروه پلی کومب و تا حدی ژن های گروه تری توراکس نیز از نظر ژنتیکی برهم کنش دارند. ویژگی مولکولی بعدی، برهم کنش و همکاری پروتئین های رمزگذاری شده به وسیله این گروه ها در کمپلکس های مولتی مری بزرگ و از نظر بیوشیمیایی معین را نشان داد. پروتئین های گروه پلی کومب دو نوع کمپلکس اصلی را تشکیل می دهند: کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۱ و کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۲ (کرودا و همکاران، ۲۰۲۰). چهار عضو گروه پلی کومب، هسته اصلی کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۱ در مگس سرکه را تشکیل می دهند: پلی کومب، پلی هومئوتیک، شانه های جنسی خلفی^۲ و مازاد شانه جنسی^۳ همچنین به عنوان dRing 1 شناخته می شوند. کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۲ شامل چهار

¹. Polycomb Repressive Complex 1

². Posterior sex combs (Psc)

³. Sex combs extra (Sce)

پروتئین اصلی است: تشدیدکننده زست^۱، سرکوب کننده زست^۲، شانه‌های جنسی اضافی^۳ و عامل سرهم‌بندی کروماتین ۱، زیرواحد P55 (Caf1-55) همچنین معروف به P55 یا Nurf55 است. کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ علامت سرکوبگر H3K27me3 را از طریق کرومومدین پلی کومب شناسایی می‌کند و به آن متصل می‌شود و بازسازی کروماتین و رونویسی کروماتین را مسدود می‌کند. کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ همچنین دارای فعالیت لیگاز یوبی کوئیتین E3 با وساطت Sce/ dRING1 است که H2Ak119 را مونویوبی کوئیتیل می‌کند (در مگس سرکه K118 متناظر یوبی کوئیتیل می‌شود).

از طریق فعالیت متیل ترانسفراز E(z)'s، کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ لیزین ۲۷ روی هیستون H3 (H3K27 me3) در ژن‌هایی که برای خاموش کردن هدف‌گیری شده‌اند، تری‌متیل می‌کند؛ بنابراین این علامت هیستون متمایز، مسئول سرکوب با واسطه سیستم گروه پلی کومب است. زیرواحدهای SU (Z)12 و شانه‌های جنسی اضافی این فعالیت تغییردهندگی هیستون را تشدید می‌کنند. ترکیب کمپلکس‌های اصلی در پستانداران نیز حفاظت شده است (شکل ۳-۱). در آنجا برای مقابله با پیچیدگی تنظیمی بالاتر جاندار، تعدادی ارتولوگ و عوامل اضافی با زیرواحدهای اصلی برای اجرای اعمال ویژه بافت و نوع سلول‌ها همکاری می‌کنند. عملکرد هماهنگ این کمپلکس‌های پروتئینی منجر به سرکوب رونویسی پایدار و موروثی ژن‌های هدف گروه پلی کومب می‌شود.

از طرف دیگر، گروه تعیین شده از نظر ژنتیکی پروتئین‌های گروه تری‌توراکس پیدا شد که شامل یک خانواده بزرگ و متفاوت‌تر از اعمال و کمپلکس‌های پروتئینی است که در فعال‌سازی رونویسی نقش دارد. آن‌ها با استفاده از مکانیزم‌های مختلف از جمله تغییرات پس از ترجمه هیستون‌ها، بازسازی کروماتین، به‌کارگیری ماشین رونویسی و به‌هم‌پیوستگی کروموزوم، خاموشی به واسطه گروه پلی کومب را خنثی می‌کنند (کینگستون و تامکون، ۲۰۱۴). کمپلکس‌های گروه تری‌توراکس نظیر TAC1، dCOMPASS و شبیه dCOMPASS، H3K4 را متیل می‌کنند، تغییری که ژن‌های فعالانه رونویسی شده و پروموتورهای فعال را علامت‌گذاری می‌کند. همچنین اعضای گروه تری‌توراکس به‌صورت کمپلکس‌های بازسازی کننده کروماتین وابسته به BRG ATP یا سوئیچ/سوکرز غیرقابل تخمیر بزرگ، سرهم‌بندی می‌شوند که می‌تواند نوکلئوزوم را متحرک کند و دسترسی به کروماتین را ارتقا دهند (فصل دوم را ببینید).

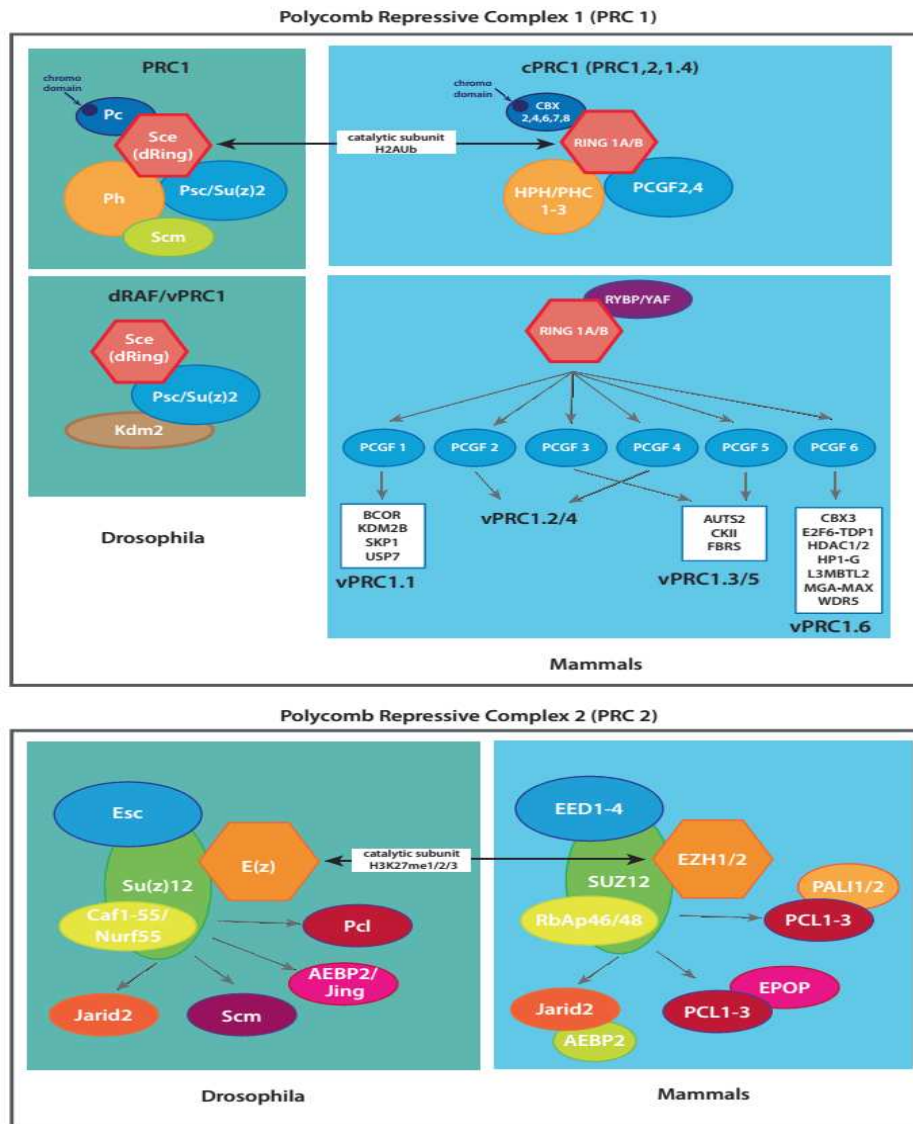
عوامل رونویسی مربوط به تکوین اغلب به شیوه خاص بافت و ویژه مرحله تکوین بیان می‌شوند. تا حد زیادی فعالیت این عوامل رونویسی از طریق بیان آن‌ها در سلول فعال، کنترل می‌شود. برعکس،

¹. Enhancer of zeste (E(z))

². Suppressor of zeste 12 (Su(z)12)

³. Extra sex combs (Esc)

بیشتر پروتئین‌های گروه تری‌توراکس و گروه پلی‌کومب همیشه در همهٔ انواع سلول وجود دارند. از این رو پرسش این است که چگونه این عوامل به‌طور فراگیر بیان شده که فرایندهای رونویسی را به شیوهٔ خاص نوع سلول کنترل می‌کند، می‌توانند چنین ویژگی آشکاری را برای ژن‌های هدف خاص خودشان حفظ کنند.



شکل ۳-۱. کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ و ۲ در مگس ها و پستانداران. کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ و کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲، کمپلکس های چند پروتئینی هستند که از نظر بیوشیمیایی قابل شناسایی اند. عوامل اصلی برای نشان دادن همتایان مربوطه در مگس ها و پستانداران کد رنگی دارند. دو کمپلکس دارای یک فعالیت آنزیمی خاص هستند؛ dRING یا RING1 A/B در کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ یک مونوئوبی کوئیتین را در H2AK118 (مگس سرکه) و H2AK118 (پستانداران) و E(Z) یا EZH1 /2 یک بخش متیل روی H3K27 قرار می دهد. برخی از پروتئین های اصلی در کمپلکس های مختلف به ویژه در پستانداران یافت می شوند (vPRC1.1-6). در ترکیب با عوامل جانبی اضافی، این کمپلکس ها وظایف خاصی را به شیوه مخصوص بافت انجام می دهند.

۳-۴- هدف گیری و انتشار دمین های کروماتین کنترل شده با گروه تری توراکس

/گروه پلی کومب

در خوشه های ژن هومئوباکس^۱ مگس سرکه، عناصر تنظیمی سیس کمپلکس آنتنا پدیا^۲ و کمپلکس بی توراکس^۳ که پروتئین های گروه پلی کومب را جذب می کنند، شناسایی شدند. این عناصر پاسخ پلی کومب^۴، با اتصال به پروتئین های گروه پلی کومب که ژن های گزارشگر مجاور را خاموش می کنند، می توانند به تنهایی عمل کنند (سیمون و همکاران، ۱۹۹۳). حذف های عناصر پاسخ پلی کومب، منجر به بیان بد و نابه جای ژن های هومئوتیک متناظر می شود. عوامل گروه پلی کومب فراگیر بیان شده و خاص توالی، مانند پلیو هومئوتیک (pho) و عامل GAGA^۵ شناسایی شدند که از جمله عوامل دیگر، پلی بین DNA و کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ و کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ ایجاد می کنند (کورد و همکاران، ۲۰۲۰) (شکل ۳-۲). در ژنوم پستانداران به نظر می رسد برای هدف گیری از اصول مشابهی استفاده می شود اگرچه ماهیت دقیق و تلفیق عوامل رونویسی هنوز مشخص نشده است. کمپلکس های گروه پلی کومب در جزایر CpG غیرمتیله، غنی می شوند. اجزای مختلف نظیر KDM2، SU212 و JARID2 تمایل به توالی های DNA غنی از GC دارند که ممکن است به سرهم بندی کمپلکس ها در مکان های محل تجمع کمک کنند. علاوه بر این، متیلاسیون DNA نقش مهمی در لنگر انداختن کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ در مکان های خاص در پستانداران ایفا می کند. به علاوه LncRNAs برای لنگر انداختن کمپلکس های گروه پلی کومب به مکان های هدف پیشنهاد شده است (فصل چهارم را ببینید).

^۱. Homeobox gene (HOX)

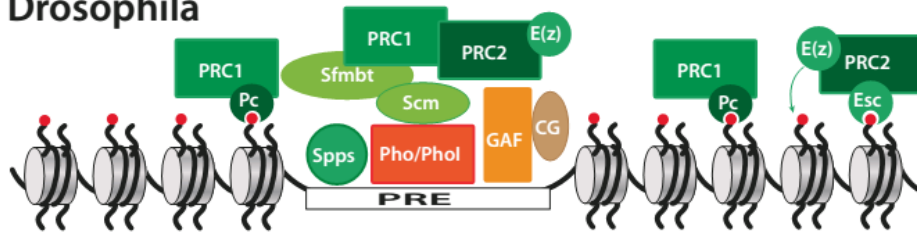
^۲. Antennapedia Complex (ANT-C)

^۳. Bithorax complex (BX-C)

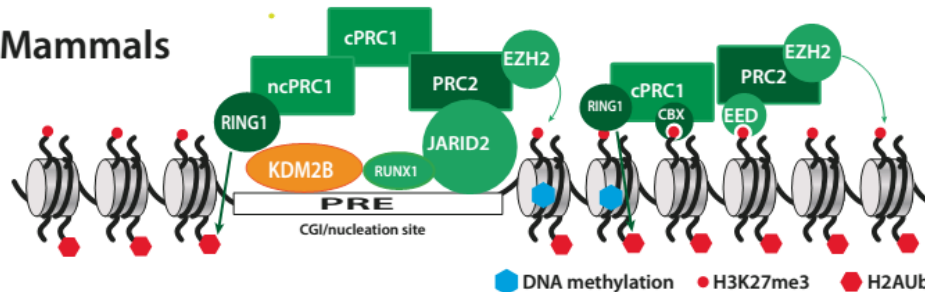
^۴. PcG Response Elements (PREs)

^۵. GAGA factor (GAF)

Drosophila



Mammals



شکل ۲-۳: لنگر انداختن کمپلکس‌های گروه پلی کومب به عناصر خاموش کننده. (بالا) در مگس سرکه عناصر سرکوب کننده گروه پلی کومب با ترکیبی از عوامل رونویسی ویژه توالی (Spps, Pho/Pho1, GAF و CG) شناسایی و متصل می شوند. آن‌ها با کمپلکس‌های کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ که سیگنال H3K27me3 را تولید می کنند، برهم کنش دارند و کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ را جذب می کنند. ESC/ EED کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ و PC/ CBX کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ به H3K27me3 متصل می شود تا خودانتشاری یا گسترش علامت سرکوبگری را پدید آورد. در نتیجه می تواند عناصر پاسخ پلی کومب تراکم نوکلئوزوم و مهار رونویسی را با برهم کنش با RNA پلمیراز II متوقف شده، القا کند. (پایین) در پستانداران نیاز توالی عناصر پاسخ پلی کومب و عوامل رونویسی متناظر کمتر شناخته شده است. جزایر CpG غیرمتیله، کمپلکس‌های گروه پلی کومب را از طریق عواملی مانند KDM2, JARID2 و SUZ12 جذب می کنند که تمایل به DNA غنی از CG دارند. برخلاف مگس سرکه که در آن نقش H2Aub به خوبی فهمیده نشده است، در پستانداران این علامت به کارگیری کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ از طریق JARID2 را تسهیل می کند. عناصر پاسخ پلی کومب هم چنین به عنوان پلتفرمی برای عوامل گروه تری توراکیس می توانند استفاده شوند که به موجب آن به عنوان سوئیچ برای تنظیم ژن عمل می کنند.

شاخص اصلی خاموش کنندگی گروه پلی کومب، تغییر هیستون H3K27me3 است که عمدتاً در عناصر پاسخ پلی کومب و پروموتورهای متصل شده مشاهده می شود ولی همچنین تا حد زیادی در جسم ژن^۱ سرکوب شده گسترش پیدا می کند. این گسترش می تواند با استفاده از روش‌های رسوب ایمنی کروماتین قابل رویت شود (فصل اول کتاب، کادر اول را ببینید). قراردادن علامت H3K27me3 روی نواحی گسترده نوکلئوزوم را با فعالیت‌های همکاری و ترکیبی اعضای منفرد

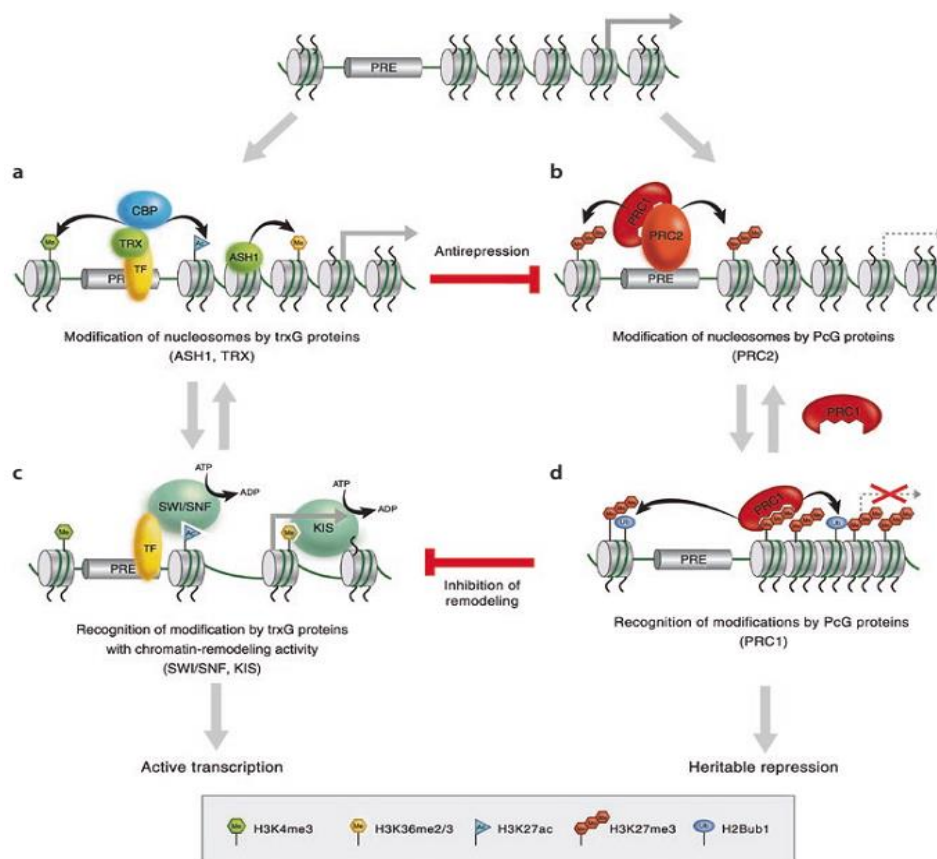
^۱. Gene body

کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ و کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ می توان توضیح داد. فعالیت هیستون متیل ترانسفراز H3K27 E(z)/Ezh در کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ از طریق جزء دیگر کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ یعنی Esc/Eed متصل به H3K27me3، برانگیخته می شود و مکانیزم پیش نوردی^۱ را مطرح می کند که در طول رشته کروماتین پیشرفت می کند. پروتئین پلی کومب کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ با اتصال به علامت H3K27me3 از طریق کرومومدین خود به عنوان یک خواننده عمل می کند. در ترکیب با سایر اجزای کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱، مانند پلی هومئوتیک که شامل ماژول های مولتی مریزاسیون (دمین S-آدنوزیل متیونین) است، خوشه بندی موضعی گسترده بخش های کروماتین ایجاد می شود. این موضوع منجر به تراکم موضعی نوکلئوزومی در مکان های تنظیمی و در نتیجه، کاهش دسترسی به DNA برای عوامل رونویسی می شود. جالب است که این نواحی متراکم شده موضعی، همچنین می تواند با نواحی خاموش شده مشابه در بخش های دیگر ژنوم، برهم کنش داشته باشد و دمین های از نظر میکروسکوپی قابل رویت تولید کنند (اینتروان و همکاران، ۲۰۱۶).

نمونه ای برای چنین برهم کنش های دوربردی در دو خوشه ژن هومئوباکس مگس سرکه می تواند یافت شود که به طور طبیعی به اندازه مگابازهای روی کروموزوم خطی از هم جدا شده اند ولی در هسته سلول ها که ژن های هومئوباکس سرکوب می شوند، در نزدیکی هم قرار می گیرند. خواص شیمیایی اجزای معین گروه پلی کومب، کمپلکس ها را وادار می کند تا قطرات فازی مجزا تولید کنند که به آن ها اجسام گروه پلی کومب گفته می شود. چنین بخش های زیر هسته ای با حد و مرزهای مولکولی مانند غشاها تعریف نمی شوند ولی مانند آب و روغن با خواص شیمیایی متفاوتشان از هم جدا می شوند. اخیراً نشان داده شده است که جزء پلی کومب پستانداران (CBX2) کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ متعارف، می توانند در شرایط آزمایشگاهی، قطرات فازی مجزا و در سلول ها اجسام پویا ایجاد کنند (پلیز و همکاران، ۲۰۱۹). موتاسیون های مشابه در CBX2 که قبلاً به عنوان مختل کننده تراکم نوکلئوزوم و منجر شدن به نقص های محوری در موش شناسایی شده بود، مشخص شد که جداسازی فاز در شرایط آزمایشگاهی و تشکیل اجسام در سلول ها را مختل می کند. این موضوع توانایی اتصال به H3K27me3، نوکلئوزوم های فشرده و فاز مجزا به صورت یک جزء تکی کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ را فراهم می کند. این داده ها از این فرضیه پشتیبانی می کنند که جداسازی فاز و تراکم توسط کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ توسط مکانیزم های مرتبط ایجاد می شود؛ بنابراین نویسندگان حدس می زنند که غلظت بالای کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ در اجسام فازی مجزا شده، می تواند حفظ حالت کروماتین سرکوب کننده طی تکوین را تسهیل کند.

^۱. Feed-forward

به نظر می‌رسد با ازدیاد علامت‌های کروماتین، مولتی‌مریزاسیون کمپلکس‌ها و خوشه‌بندی در فضای سه‌بعدی هسته، الزامات اصلی برای تولید دمین‌های ژنومی پایدار و موروثی سرکوب شده باشد. در واقع تنظیم ژن‌های هومئوباکس که هویت‌های سلولی طولانی مدت را تعریف می‌کند، به‌خوبی این دیدگاه محدودشده عملکرد گروه پلی‌کومب را پشتیبانی می‌کند. با این حال، بیشتر ژن‌های دیگر هدف گروه پلی‌کومب شناسایی شده، بیان را به مرور زمان طی سیکل سلولی تغییر می‌دهند یا حتی در معرض کنترل محیطی کوتاه‌مدت قرار می‌گیرند. در اینجا خانواده عوامل گروه تری‌توراکس وارد بازی می‌شوند. یک یافته شگفت‌انگیز این بود که عناصر پاسخ پلی‌کومب نه تنها پروتئین‌های کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۷/۲ را جذب می‌کنند، بلکه تعدادی از پروتئین‌های گروه تری‌توراکس را نیز جذب می‌کنند که نشان می‌دهد آن‌ها عناصر قابل تغییر هستند. درحالی‌که خاموش کردن عناصر پاسخ پلی‌کومب خاص ژن به‌وسیله، اجزای گروه پلی‌کومب، بیانگر حالت پیش‌فرض است، یک کلید خاموش / روشن رقابتی و تنظیم دقیق از طریق ترکیب ویژه پروتئین‌های گروه تری‌توراکس و عوامل رونویسی اعمال می‌شود که به نشانه‌های محیطی یا تکوینی واکنش نشان می‌دهد (شکل ۳-۳).



شکل ۳-۳ اعمال آنتاگونیست بین عوامل گروه پلی کومب و گروه تری توراکس. هر دو خانواده گروه پلی کومب و گروه تری توراکس شامل پروتئین‌هایی هستند که هیستون‌ها را به‌طور کووالان و کروماتین را به‌طور غیرکووالان تغییر می‌دهند. تغییرات کووالان روی هیستون‌ها، اتصال یا فعالیت کمپلکس‌های گروه تری توراکس (به‌عنوان مثال سوئیچ/سوکرز غیرقابل تخمیر و KIS)، کمپلکس‌های گروه پلی کومب (به‌عنوان مثال، کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۱ و کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۲) یا عوامل دیگر دخیل در نگهداری حالت‌های فعال یا سرکوب‌شده را می‌تواند پیش ببرد یا مسدود کند. اتصال توسط کمپلکس‌های اخیر این پتانسیل را دارد که منجر به تغییرات کووالان بیشتر شود؛ بنابراین منجر به چرخه‌های تکراری تغییر کووالان و شناسایی علائم کووالانسی می‌شود. **a** عوامل گروه تری توراکس در نواحی پرموتر به عناصر پاسخ پلی کومب جذب می‌شوند و هیستون‌ها را برای فعالیت علامت‌گذاری می‌کنند. **b** در یک چرخه سلولی متفاوت، همان ژن با تغییرات منفی هیستون توسط کمپلکس‌های گروه پلی کومب متصل به عناصر پاسخ پلی کومب علامت‌دار می‌شود. **c** کمپلکس‌های بازسازی نوکلئوزوم، علامت‌های هیستون فعال و بسته‌بندی نوکلئوزومی باز را برای دسترسی به ماشین رونویسی شناسایی می‌کند. **d** تغییر هیستون‌ها به‌وسیله کمپلکس‌های گروه پلی کومب منجر به تراکم نوکلئوزوم‌ها و سرکوب ژن می‌شود. بسته به ساختار موضعی و غلظت عوامل آنتاگونیستی، ژن‌ها یا به‌صورت فعال یا سرکوب‌شده دائمی حفظ می‌شوند (از کینگستون و تامکون، ۲۰۱۴).

یک مورد جالب در این خصوص، دمین‌های دو ظرفیتی هستند. در ابتدا در سلول‌های بنیادی جنینی پستانداران کشف شدند، همچنین آن‌ها اخیراً در ژنوم جنینی مگس سرکه شناسایی شدند (آکامدو و همکاران، ۲۰۱۹). دمین‌های دو ظرفیتی با حضور همزمان علامت هیستون مشخص گروه پلی‌کومب یعنی H3K27me3 و علامت مخصوص گروه تری‌توراکس یعنی H3K4me3 روی منطقه ژنومی گسترده مشخص می‌شوند (فصل اول کتاب همچنین روش کادر اول را ببینید). در مراحل اولیه جنینی به نظر می‌رسد این علامت‌گذاری دوگانه در ژن‌ها پیامی برای آماده بودن شرایط رونویسی است. از این رو یک ژن منتظر پیام‌های تکوینی مناسب می‌ماند تا بیان خود را به حالت فعال یا سرکوب شده بسته به سرنوشت دودمان سلول، هدایت کند. همراه با زمان تکوینی جاری و برنامه‌ریزی، پیام‌ها یا به صورت الگوی H3K27me3 کامل (و/یا در مورد پستانداران با پیام‌های متیلاسیون اضافی DNA) هنگامی که ژن سرکوب می‌شود یا H3K4me3 کامل (و همراه با استیلاسیون H3/H4) هنگامی که ژن فعال است تفکیک می‌شود (ویگت و همکاران، ۲۰۱۳). این قابلیت ضد سرکوبگری خاص مکان اعضای گروه تری‌توراکس، ابزاری برای چگونگی تغییر حالت بیان از حالت خاموش به فعال که به عنوان مدل تغییر اصلی دو ظرفیتی نیز شناخته می‌شود، فراهم می‌کند (کوردا و همکاران، ۲۰۲۰).

یک جنبه اصلی، تغییر تعادل با افزودن بخش‌های استیلاسیون، باز کردن تراکم نوکلئوزومی و امکان فعال‌سازی رونویسی است. در واقع پروتئین‌های کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۱ کمپلکس شده با استیل ترانسفرازها و پروتئین‌های دارای برومودومین متصل‌شونده به استیل، پیدا شده‌بودند. از این رو تعادل موضعی بین پروتئین‌های گروه پلی‌کومب و گروه تری‌توراکس حالت تغییرات هیستون و در نتیجه قابلیت دسترسی و قابلیت پردازش الگوی کروماتین را مشخص می‌کند. با این حال بر اساس ملاحظات نظری مطرح شد که کروماتین آماده توسط یک حالت دو پایدار تحمیل شده با رقابت گروه تری‌توراکس/گروه پلی‌کومب به جای علامت‌گذاری دو ظرفیتی واقعی نوکلئوزوم‌ها تولید می‌شود (اسپین و رینگروس، ۲۰۱۹).

در مدل آن‌ها کروماتین آماده دو پایدار است، دو ظرفیتی نیست. آن‌ها مطرح کردند که کروماتین دو ظرفیتی دارای H3K27me3 و H3K4me3 به عنوان جمعیت پس‌زمینه ناپایدار در همه حالت‌های سیستم وجود دارد و زیرگروه‌های مختلف همزمان با کروماتین خاموش و فعال رخ می‌دهند. در مقابل، دوپایداری که در آن سیستم بارها بین حالت‌های خاموش و فعال پایدار تغییر می‌کند، در محدوده وسیعی از شرایط در گذر بین حالت‌های سیستم خاموش و تک‌پایدار فعال رخ می‌دهد. این پرسش که آیا دوپایداری و نه دو ظرفیتی با کروماتین آماده مرتبط است، پیامدهایی برای درک چگونگی حفظ حافظه سلولی از طریق سیستم گروه تری‌توراکس/گروه پلی‌کومب دارد. برای حل کردن این موضوع مهم، بررسی تشریح کروماتین با وضوح فوق‌العاده (رسوب ایمنی تک‌سلول، بررسی نوکلئوزوم تکی و ...) در نهایت مورد نیاز خواهد بود.

یک پلتفرم برهم کنش اصلی برای هر دو فعالیت، پروموتور ژن‌های هدف است. به‌طور ویژه، پروتئین‌های گروه پلی کومب عمدتاً در پروموتورهای با RNA پلیمراز متوقف‌شده، عمل می‌کنند. توقف RNA پلیمراز II در بسیاری از ژن‌های رمزکننده پروتئین یافت می‌شود (فصل دوم کتاب را ببینید). بررسی‌های رسوب ایمنی کروماتین گسترده ژنوم و مطالعات توالی‌یابی ادامه‌دار فراگیر^۱ نشان داد که توزیع کمپلکس‌های گروه پلی کومب (کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۱ و کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۲)، به‌طور معنی‌داری با ژن‌هایی که پلیمرازهای متوقف‌شده را نشان می‌دهند، همبستگی دارد، این موضوع مبنای مکانیکی مشترک را پیشنهاد می‌کند. در سلول‌های بنیادی جنینی موش، ژن‌هایی با دمین‌های دوظرفیتی و متصل‌شونده به هر دو کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۱ و کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۲، میزان قابل توجهی از کاهش RNA پلیمراز II متوقف‌شده در ناحیه پروموتور را نشان می‌دهد. این امر از این دیدگاه حمایت می‌کند که تراکم نوکلئوزومی، بخشی از فرایند خاموشی با دخالت گروه پلی کومب است. برعکس، بسیاری از پروموتورهای دوظرفیتی که فقط به کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۲ متصل می‌شوند، توقف قوی RNA پلیمراز II در انتهای ۵' را نشان می‌دهند، این موضوع پیشنهاد می‌کند که سیستم گروه پلی کومب به‌طور کلی مراحل مهم محدودکننده سرعت در سرهم‌بندی و طویل‌سازی رونویسی در ژن‌های هدف را کنترل می‌کند. در مگس سرکه بسیاری از اعضای گروه تری‌توراکس با کمپلکس‌های گروه پلی کومب در پروموتورها از جمله آن‌هایی که پروموتورهای متوقف‌شده دارند، هم‌مکان می‌شوند. در واقع وقوع دمین‌های دوظرفیتی در ژن‌های خاص پستانداران و هم‌نشینی اجزای کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۱/۲ با پروتئین‌های گروه تری‌توراکس در بسیاری از ژن‌های هدف مگس سرکه، یک سطح مشترک مولکولی قدرتمند بین این فعالیت متضاد را نشان می‌دهد.

یک پرسش حل نشده در این خصوص این است که لایه‌بندی کمپلکس سطوح تنظیمی چگونه از تقویت موضعی تغییرات هیستون، مولتی‌مریزاسیون کمپلکس‌های پروتئین تا خوشه‌بندی در فضای سه‌بعدی هسته‌ای پس از همانندسازی DNA و تقسیم سلول باز تولید می‌شود. با این حال، همچنین در این مورد پیچیدگی ممکن است به حفظ چند علامت مولکولی مربوطه کاهش یابد که متعاقباً به‌عنوان مکان‌های ورودی برای بازسازی چشم‌انداز کامل اپی ژنتیک عمل می‌کند. مطرح شده است که پروتئین‌های گروه تری‌توراکس (و/یا فعالیت یا علامت‌های هیستون موضعی) یک ژن فعال را علامت‌گذاری می‌کنند و طی مرحله S که بازسازی کلی کروماتین مشاهده می‌شود، متصل باقی می‌مانند. از این رو آن‌ها به‌عنوان نشانه برای فعال نگه داشتن ژن‌هایی عمل می‌کنند که برای هویت خاص سلول ضروری هستند (بلوبل و همکاران، ۲۰۰۹). برعکس در مرحله G1 بعدی، همه ژن‌ها بدون نشانه،

¹. Global Run-On sequencing (GRO-seq)

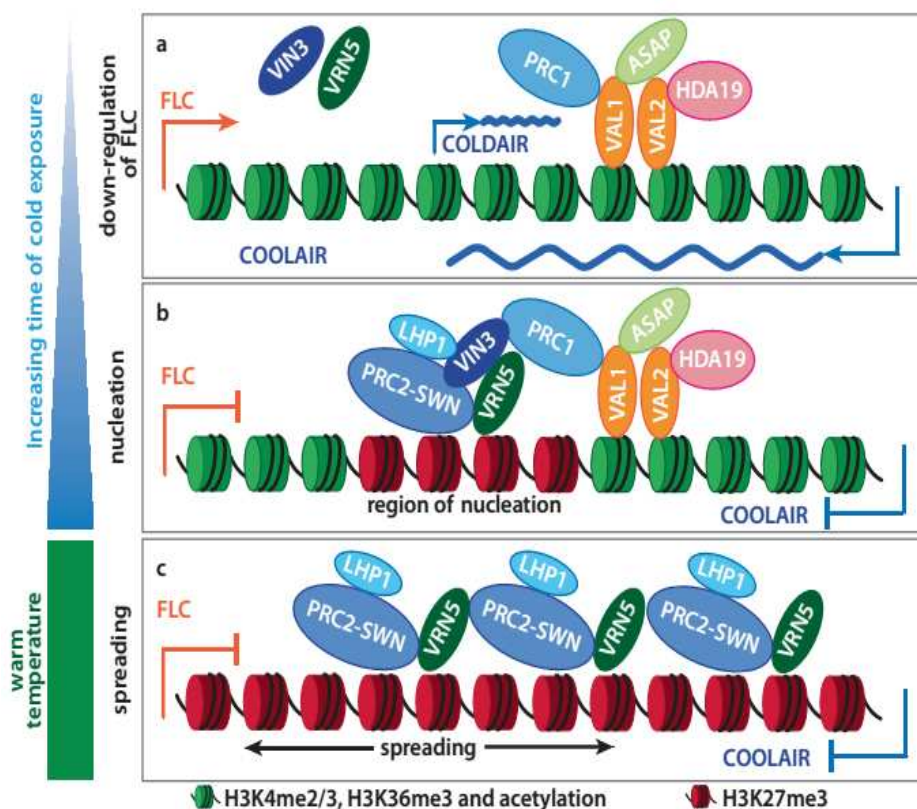
دوباره به طور پیش فرض و با برجسب گذاری از طریق عناصر پاسخ پلی کومب خاموش می شوند. این امر تضمین می کند که تنها یک بخش از ماشین حافظه رونویسی پیچیده، برای همانندسازی صحیح و انتقال فعال از طریق همانندسازی DNA و میتوز، مورد نیاز است.

۳-۵- تغییر جهت دادن حافظه و نقش RNA های غیررمزکننده

مثال دمین های کروماتین دوظرفیتی نشان می دهد که چگونه برهم کنش های رقابتی گروه تری توراکس/گروه پلی کومب منجر به حالت های بیان متضاد پایدار ضروری برای پایداری تکوینی می شود. با این حال، بسیاری از ژن های سرکوب شده یا ژن های فعال که در زمان های تکوینی اخیر سرکوب می شوند یا تحت شرایط محیطی یا فیزیولوژیکی مورد نیاز هستند، باید فعال شوند. مثال برای نمونه دوم (اخیر)، فرایند شکوفایی در گیاهان است (کوستا و دین، ۲۰۱۹).

از آنجایی که گیاهان بی تحرک هستند آن ها باید رشد و نمو و فیزیولوژی خود را با تغییر محیط، تنظیم کنند. برای اطمینان از اینکه تکوین تولیدمثلی تنها پس از دوره زمستان شروع شود، گیاهان طی شرایط محیطی مساعدتر مکانیزم هایی را توسعه می دهند تا به یاد بیاورند که دوره های طولانی سرما را تجربه کرده اند. اصل این فرایند، خاموش کردن اپی ژنتیک سرکوب کننده گل در دوره های سرما است. در آرابیدوپسیس، عامل رونویسی جایگاه گلدهی C^۱ به عنوان وقفه گلدهی عمل می کند. بیان این سرکوبگر به تدریج طی دوره های طولانی سرما کاهش پیدا می کند، به طوری که هنگامی که گیاهان دوره های نوری القایی و دمای گرم را تشخیص می دهند، تغییر جهت به سمت گلدهی می تواند فعال شود. سرکوب جایگاه گلدهی C پایدار است و به مدت چندین ماه پس از قرار گرفتن در معرض سرما تا زمان جنین زایی در بذر تولیدکننده نسل بعد که منجر به فعال سازی مجدد جایگاه گلدهی C شود، حفظ می شود (شکل ۳-۴).

^۱. FLOWERING LOCUS C (FLC)



شکل ۳-۴: مدلی برای LncRNA که یک تغییر جهت اپی ژنتیکی را در جایگاه گلدهی C القا می کند. a قبل از قرار گرفتن در معرض سرما طی فصل زمستان، جایگاه گلدهی C بیان می شود و هیستون ها با علامت H3K4ME2/3، H3K36me3 و استیلاسیون مشخص می شوند. در شروع قرار گرفتن در سرما، بیان LncRNA داخلی Coldair، کمپلکس های گروه پلی کومب را به ژن، جذب می کند. علاوه بر این، LncRNA آنتی سنس COOLAIR به طور موقت به میزان زیاد بیان می شود و باعث فرو تنظیم رونویسی جایگاه گلدهی C می شود. در نزدیکی ناحیه تجمع کمپلکس VAL1/2 هیستون داستیلاز¹⁹، کمپلکس تنظیم کننده رونویسی ASAP و کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ را جذب می کند که سرکوب رونویسی را به خاموشی گروه پلی کومب مرتبط کند. b. تجمع عوامل توسط ASAP شروع می شود که با پروتئین های فرعی کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ نظیر VIN3 و VRN5 و با کمپلکس PRC2-SWN مرتبط است. این امر یک حالت خاموشی ناپایدار در جایگاه گلدهی C ایجاد می کند که شروع به تجمع سیگنال های H3K27me3 در ناحیه تجمع عوامل می کند. c پس از قرار گرفتن در معرض هوای گرم، این پیام همراه با LHP1 و PRC2-CLF در کل جایگاه پخش می شود و یک حالت از نظر اپی ژنتیکی خاموش طولانی مدت ایجاد می کند. این شرایط در چندین تقسیم سلول تا زمان تنظیم مجدد در نسل بعدی طی جنین زایی حفظ می شود.

¹. VIVIPAROUS1/ABI3-LIKE1 (VAL1) and VAL2 (سرکوب کننده رونویسی)

کشف یک جفت LncRNA رونویسی شده در جایگاه، جایگاه گلدهی C نقش جدیدی را برای چنین رونوشت‌هایی در مکانیزم سوئیچ اپی‌ژنتیک نشان داد. سرما، تجمع موضعی هر دو LncRNA را القا می‌کند: *COLD AIR* که داخل یک اینترون جایگاه گلدهی C رونویسی می‌شود و *COOL AIR* که آنتی‌سنس برای mRNA جایگاه گلدهی C رونویسی می‌شود. *COLD AIR*، کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ گیاه که شامل هومولوگ‌های E(Z) یعنی CLF^۱ و SWN^۲ است را به خدمت می‌گیرد. این امر منجر به غنی‌سازی H3K27me در انتهای ۳ و ۵ جایگاه گلدهی C می‌شود. رونوشت آنتی‌سنس *COOL AIR* ژن جایگاه گلدهی C را پوشش می‌دهد و باعث برداشتن علائم فعال‌کننده H3K4me و H3K9me می‌شود. LncRNA ها باعث سرکوب جایگاه گلدهی C می‌شوند که متعاقبا با خاموش‌کننده گروه پلی‌کومب تثبیت می‌شود؛ مانند عناصر پاسخ پلی‌کومب، کمپلکس‌های سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ در یک مکان تکی در داخل ژن جایگاه گلدهی C متمرکز می‌شوند که به عنوان یک مکان تجمع برای انتشار H3K27me₃ عمل می‌کند. در نهایت کل کروماتین جایگاه گلدهی C توسط کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ به همراه علامت متیلاسیون هیستون پوشیده می‌شود. جالب توجه است که میزان متیلاسیون در مکان تجمع و وسعت دمین خاموش شده با طول دوره سرما ارتباط دارد و یک رنوستا برای فرایند شکوفایی فراهم می‌کند.

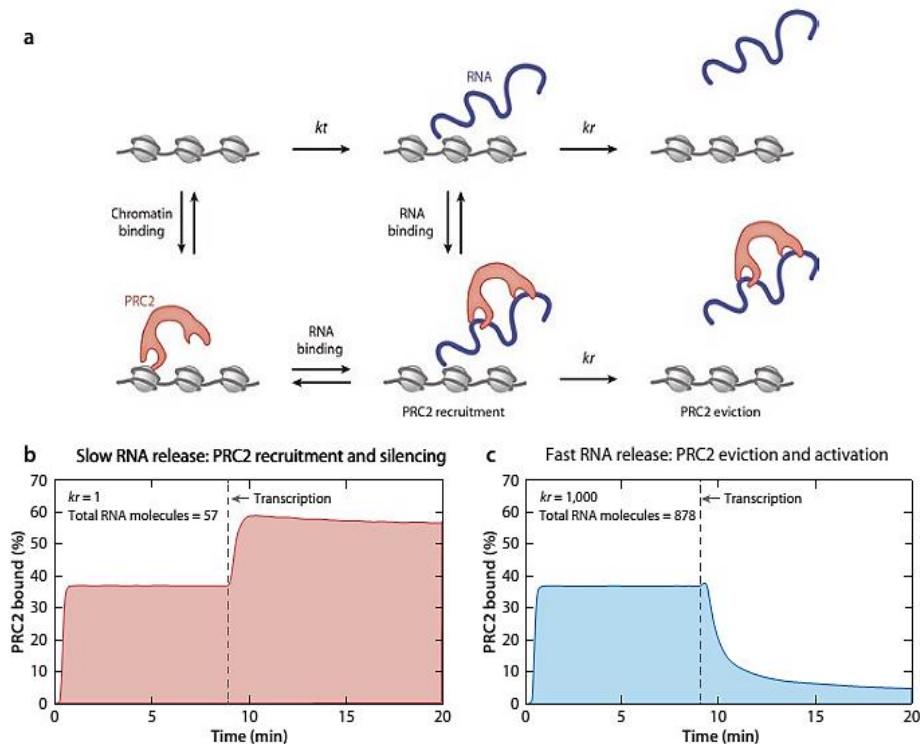
LncRNA ها اهمیت زیادی در فرایندهای اپی‌ژنتیکی دارند، به ویژه برهم‌کنش با کمپلکس‌های خاموش‌کننده کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ به طور گسترده مستند شده است. یکی از این نمونه‌ها رونوشت ویژه غیرفعال X است که در غیر فعال‌سازی کروموزوم X پستانداران نقش دارد (فصل چهار کتاب را ببینید). مثال‌های دیگر شامل LncRNA *HOTAIR* است که در خاموش کردن ژن‌های HoX در ژنوم پستانداران نقش دارد (آچور و آگیلو، ۲۰۱۸). *HOTAIR* به صورت ترانس برای سرکوب بیان عمل می‌کنند. LncRNA از جایگاه *HOXC* در کروموزوم ۱۲ رونویسی می‌شود، ولی کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ و کمپلکس coREST/REST حاوی لیزین دمتیلازا را برای *HOXD* در کروموزوم ۲ به کار می‌گیرد. این به خدمت گرفتن منجر به قراردادن H3K27me توسط کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ و حذف علائم فعال‌کننده H3K4me توسط لیزین دمتیلازا می‌شود. در این موارد به نظر می‌رسد RNA ها به عنوان داربست در حالت سیس یا در ترنس برای فعالیت خاموش‌کنندگی عمل می‌کنند. با این حال، مازول‌های تنظیمی توصیف شده‌اند که رونویسی LncRNA از طریق یک عنصر پاسخ پلی‌کومب منجر به جابه‌جایی کمپلکس‌های خاموش‌کننده و در نتیجه فعال‌سازی یک ژن هدف می‌شود (رینگ روز، ۲۰۱۷).

^۱. CURLY LEAF (CLF)

^۲. SWINGER (SWN)

در حیوانات گزارش‌هایی که توالی یک LncRNA (با مکمل آن با DNA) برای هدف قراردادن کمپلکس‌های اپی ژنتیک برای مکان‌های ژنومی خاص استفاده می‌شود به خوبی تأیید نشده و هنوز بحث‌برانگیز است. این برخلاف RNA های کوچک در گیاهان است که به‌وضوح می‌توانند کروماتین و کمپلکس‌های تغییردهنده DNA را برای هدف قراردادن مکان‌ها، به شیوه خاص توالی به کار بگیرند (فصل ششم کتاب را ببینید).

به‌طور خلاصه چندین حالت وجود دارد که در آن‌ها رونویسی یک LncRNA (یا هر رونوشت دیگری) می‌تواند یک کمپلکس خاموش‌کننده گروه پلی کومب را جابه‌جا کند. به موازات آن، رونوشت‌هایی وجود دارند که می‌توانند به‌صورت موضعی کمپلکس‌های گروه پلی کومب را در سیس جذب کنند و خاموش کردن یک ژن را القا کنند. این امر پتانسیل مکانیزم سوئیچ را بر اساس فعالیت RNA ها ارائه می‌کند. در واقع نقش LncRNA عمل‌کننده در سیس در تغییر حالت‌های رونویسی گروه تری‌توراکس/گروه پلی کومب بر اساس معیارهای منتشرشده، مدل شده است (رینگ روز، ۲۰۱۷). بسته به پارامترهای سینتیک LncRNA می‌توانند برای به کار گرفتن کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۲ برای هدف قراردادن کروماتین عمل کنند یا می‌توانند برای خارج کردن کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۲ از کروماتین خاموش‌شده، عمل کنند (شکل ۳-۵).



شکل ۳-۵: مدل سینتیک ساده برای برهم کنش کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ با RNA و کروماتین. این مدل بر اساس معادلات دیفرانسیل معمولی است و شامل سه جزء است: کروماتین (خاکستری)، کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ (قرمز) و RNA (آبی تیره). (سمت چپ) اتصال کروماتین: کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ مستقیماً می تواند به کروماتین متصل شود. ثابت تفکیک (Kd) برای این برهم کنش 86 نانومولار است که برای اتصال کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ به دماهای هیستون تغییر داده شده H3K27me3 اندازه گیری شد. (وسط) اتصال RNA: کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ همچنین می تواند به RNA متصل شود. Kd استفاده شده برای این برهم کنش در شبیه سازی ها نشان داده شده، ۳۰ نانومتر است. RNA با سرعت Kt تولید می شود، با سرعت Kr از کروماتین رها می شود و با سرعت Kd (نشان داده نشده) تخریب می شود. (راست) RNA پس از رونویسی از کروماتین رها می شود و یا متصل به کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ (پایین) یا بدون اتصال به کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ (بالا). **b** و **c** سیستم در یک دوره زمانی شبیه سازی شد و رونویسی RNA بعد از ۸ دقیقه آغاز شد. مقادیر ورودی برای این شبیه سازی ها بر اساس غلظت های هسته ای کل تنظیم شد تا میانگین تعداد مولکول ها در حجم ۱/ میکرومتر مکعب در هسته جنین مگس سرکه در چرخه ۱۲ را نشان دهد. مقادیر عبارت بودند از: کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ = ۵ مولکول؛ H3K27me3 = ۵۲ مولکول، با فرض ۶٪ دماهای تغییر داده شده؛ $kt = 0.2 \text{ s}^{-1}$ و $kd = 0.01 \text{ s}^{-1}$. Kr همان طور که در پانل های **b** و **c** نشان داده شده است، متغیر بود. فرض بر این است که مولکول های RNA محدود به حجم شبیه سازی باشد (از رینگ روس، ۲۰۱۷).

۳-۶- ازدست دادن حافظه

یک شکل طبیعی از دست دادن حافظه سلولی طی انتقال اطلاعات ژنتیکی از طریق سلول‌های زایا برای لقاح و تولید فرزندان، مورد نیاز است. سلول‌های زایا باید هر اطلاعات رمزگذاری شده اپی ژنتیکی تحت پوشش دمین‌های کروماتین ویژه بافت یا علائم نشانه‌گذاری شده اپی ژنتیکی ناشی از نشانه‌های محیطی را ببندند (ریک و سورانی، ۲۰۱۵). در حقیقت تکوین سلول‌های زایا چندین گلوگاه را دربرمی گیرد که در آن اطلاعات کروماتین ظاهراً پاک می‌شود تا از شروع مجدد صحیح برنامه‌نویسی رونویسی در لقاح اطمینان حاصل شود. طیف وسیعی از جایگزینی هیستون‌ها با پروتامین‌ها، به دنبال فشردگی زیاد ژنوم در سلول‌های اسپرم تا دمتیلاسیون کامل DNA کل ژنوم در جنین‌های اولیه پستانداران قبل از لانه‌گزینی مشاهده می‌شود (فصل ششم کتاب را ببینید).

جالب توجه است، استثناهایی در تولیدمثل حیوانی و گیاهی مشاهده شده است که در آن همه اطلاعات اپی ژنتیکی پاک نمی‌شود و بر رشد طبیعی و فیزیولوژی فرزندان تأثیر می‌گذارد. اولین مورد در مگس سرکه با عناصر پاسخ پلی‌کومب که یک ژن گزارشگر سفید را کنترل می‌کند (مستول رنگ قرمز چشم در مگس‌ها) توصیف شد (سیابرلی و همکاران، ۲۰۱۷؛ کاوالی و پارو، ۱۹۹۸).

به‌طور طبیعی، عناصر پاسخ پلی‌کومب، گزارشگری که منجر به مگس‌های با چشم سفید می‌شود را خاموش می‌کند؛ با توجه به اینکه جایگاه سفید درون‌زاد، جهش یافته بود. از طریق یک سوئیچ رونویسی تکی، ژن گزارشگر می‌تواند فعال شود و در تمام طول تکوین کامل مگس فعال بماند. با کمال تعجب شکل فعال شده در لاین زایا پاک نشد بلکه به فرزندان که رنگ چشم قرمز را نیز نشان می‌دادند، منتقل شد. این اثر می‌تواند در چندین نسل حفظ شود، این موضوع نشان می‌دهد که تحت شرایط خاص یک پیام رونویسی تکی که مدولار بودن عناصر پاسخ پلی‌کومب را تغییر می‌دهد می‌تواند اطلاعات رمزگذاری شده اپی ژنتیکی را در چندین نسل منتشر کند. مواردی از وراثت بین نسلی اکنون در پستانداران نیز مشاهده شده است (بوسکوویچ و راندو، ۲۰۱۸).

یکی از تأثیر گذارترین مثال‌ها، توارث بین نسلی حالت بیان ژن آگوتی است که مستول رنگ پوشش در موش است (فصل نهم کتاب را ببینید). رژیم غذایی خاص والدین الگوی متیلاسیون DNA را در جایگاه می‌تواند تغییر دهد که در لاین زایا همیشه پاک نمی‌شود و در نتیجه به فرزندان منتقل می‌شود. علامت اپی ژنتیک منتقل شده، بیان ژن آگوتی و از این رو رنگ پوشش را در نسل‌های بعدی کنترل می‌کند. درحالی‌که انتقال از طریق میوز، گامت‌زایی و جنین‌زایی اولیه بر اساس علائم متیلاسیون DNA به‌خوبی مستند شده است، در بسیاری از موارد دیگر پیام اپی ژنتیک که منتقل می‌شود و باعث ایجاد اثر در فرزندان می‌شود، همیشه واضح نیست (گروس نیکلاوس و همکاران، ۲۰۱۳). برعکس، در گیاهان تنظیم اپی ژنتیک بین نسلی در پاسخ به تنش‌های محیطی به خوبی در سطح مولکولی و فیزیولوژی توصیف می‌شود.

سرطان تا حد زیادی یک بیماری ژنتیکی در نظر گرفته می‌شود. با تجمع موتاسیون در انکوژن‌ها یا ژن‌های سرکوبگر تومور، سلول‌ها تماس خود را با همسایگان از دست می‌دهند و شروع به تکثیر بیش‌ازحد می‌کنند؛ رفتار متابولیکی را تغییر می‌دهند و در نهایت برای ایجاد متاستازهای کشنده مهاجرت می‌کنند. سرطان همچنین یک بیماری تنظیم نادرست رونویسی است، با توجه به نقش کروماتین در این فرایند رونویسی، حیرت‌آور نیست که درک کنیم موتاسیون‌های زیادی در عوامل کنترل‌کننده کروماتین در سرطان‌های انسانی مشاهده شده است. موتاسیون‌ها، تغییر فنوتیپی طولانی مدت سلول‌های سرطانی را تضمین می‌کنند. با این حال علامت‌های اپی‌ژنتیک مانند متیلاسیون DNA یا تغییر هیستون نیز می‌توانند طولانی مدت باشند و حالت‌های بیان ژن را در بسیاری از نسل‌های سلولی حفظ کنند. در نتیجه بیان بی‌نظم در سلول‌های سرطانی نه تنها نیاز به مبنای موتاسیون دارد بلکه اغلب توسط تنظیم نادرست اپی‌ژنتیک هدایت می‌شود. در فصل نهم اپی‌ژنتیک سرطان به تفصیل توضیح داده شده است. در اینجا دو مثال برای موتاسیون‌ها در اجزای سیستم حافظه سلولی طرح خواهد شد که نشان می‌دهد چگونه از دست دادن هویت سلولی طی انتوزنی می‌تواند منجر به توسعه حالت تومورزایی شود.

ژن گروه تری‌توراکس انسانی لوسمی ترکیبی^۱ در ابتدا به عنوان یک جابه‌جایی کروموزومی یافت شده در سلول‌های خونی شناسایی شد که باعث لوسمی لنفوبلاستیک حاد یا میلوئید می‌شود. لوسمی ترکیبی ۱ به عنوان تری‌توراکس ارتولوگ مگس سرکه (trx)، هیستون ۳ لیزین ۴ متیل ترانسفرار را رمز می‌کند و اضافه کردن علامت هیستون مثبت H3K4me3 را کاتالیز می‌کند. در جابه‌جایی، ژن می‌شکند و اغلب بخش N-ترمینال پروتئین لوسمی ترکیبی ۱ با سایر عوامل کنترل رونویسی ترکیب می‌شود. قسمت C-ترمینال که دارای فعالیت هیستون ۳ لیزین ۴ متیل ترانسفرار (دمین SET) است، حذف می‌شود و لوسمی ترکیبی ۱ را از عملکرد فعال‌کنندگی طبیعی خود محروم می‌کند. بسته به بخش‌های ترکیب شده، لوسمی ترکیبی ۱ می‌تواند ژن‌های هدف را به شیوه‌های ناب‌جا سرکوب یا فعال کند و به موجب آن پروفایل‌های بیان معمول سرطانی را القا کند. از آنجاییکه فعالیت هیستون ۳ لیزین ۴ متیل ترانسفرار به‌طور طبیعی، ماشین متیلاسیون DNA را دفع می‌کند، ترکیب‌های لوسمی ترکیبی ۱ که در آن، این بخش اغلب حضور ندارد اغلب در پروموتورهای هایپر متیله یافت می‌شوند. این امر منجر به فروتنظیم بسیاری از ژن‌های هدف می‌شود. برعکس بخش N-ترمینال لوسمی ترکیبی ۱ دارای تمایل اتصال به DNA است. به کارگیری فعال‌کننده‌های مشترک از طریق پروتئین‌های ادغام‌شده می‌تواند منجر به بیش‌فعال شدن ژن‌های هدف شود. نتیجه این اتفاق، پروفایل بیان ژن تا حد زیاد کنترل نشده است که در سلول‌های لوسمیک یافت می‌شود.

¹. Mixed Lineage Leukemia 1 (MLL1)

با مطالعه مشارکت‌های مولکولی لوسمی ترکیبی ۱ به عنوان مثال ادغام‌شده با فعال‌کننده AF9، مهارکننده‌های مولکولی کوچک خاص را می‌توان شناسایی کرد. در یک مورد، لوسمی ترکیبی ۱ با هیستون دمتیلاز (لیزین دمتیلاز^۱) برهم‌کنش دارد؛ هنگامی که از طریق یک مهارکننده کوچک لیزین دمتیلاز^۱ بلوکه می‌شود، عملکرد فعال‌کننده نابه‌جای لوسمی ترکیبی ۱ ادغامی کاسته می‌شود. به طور مشابه با جلوگیری از اتصال برهم‌کنش شریک دیگر یعنی پروتئین دارای برومودومین^۲ از طریق دمین برومویی خود به هیستون‌های استیل‌شده به وسیله مسدود کردن عملکرد خواننده (BETi)، بیش‌فعالی رونویسی نیز کاهش پیدا می‌کند (فصل هشتم را ببینید). از این رو دانش مبسوط فرایند مولکولی که فعالیت ضدسرکوبگر مبتنی بر گروه تری‌توراکس را در برمی‌گیرد امکان توسعه مهارکننده‌های تا حد زیاد خاص را فراهم می‌کند که اخیراً در کارآزمایی بالینی این مهارکننده‌ها به عنوان داروهای ضدسرطان در حال بررسی هستند.

موتاسیون‌ها در ژن‌های گروه پلی‌کومب اغلب با طیف بزرگی از انواع سرطان سلول و بافت‌های انسانی، مرتبط است. به طور مشابه فروتنظیم اعضای کمپلکس پروتئین گروه پلی‌کومب در مگس سرکه می‌تواند منجر به رشد نئوپلاستیک در صفحات انگاشتی شود (بیرا و همکاران، ۲۰۱۸). نقش جزء پلی‌هومئوتیک کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۱ با جزئیات قابل توجهی مطالعه شده است و نشان می‌دهد که چگونه از دست دادن هویت سلولی می‌تواند سلول را به طرف یک رفتار تکثیر بیش از حد سوق دهد. جالب است که هیچ ناپایداری ژنتیکی در این سلول‌ها و تومور مشاهده نمی‌شود. اختلالات اپی ژنتیکی، سلول‌ها را به حالت جنینی، برنامه‌ریزی مجدد می‌کند و مانع ورود آن‌ها به مرحله تمایز می‌شود. با این حال با وادار کردن تکوین از طریق بیان بیش‌از حد یک عامل تمایز، توانایی تومورزایی مهار می‌شود (تورس و همکاران، ۲۰۱۸). نه تنها در سرطان‌های مگس بلکه در بسیاری از سرطان‌های انسان، سلول‌هایی با ویژگی‌های تکثیر بیش‌از حد اغلب حالت تمایززدایی را نشان می‌دهند. این موضوع ویژگی‌ها و نیاز این سلول‌ها به تقسیم خارج از کنترل، مستقل بودن از محیط همسایگی و نشانه‌های تکوین را نشان می‌دهد. جالب توجه است که در رویکردهای جدید که تمایز درمانی نامیده می‌شود، تلاش می‌کنند سلول‌های سرطانی را دوباره وادار کنند وارد مسیر تمایز شوند و در نهایت آن‌ها را از مجموعه سلول‌های در حال تکثیر بیش‌از حد خارج می‌کنند. در واقع تعداد زیادی از داروهای ضد سرطان جدید که در حال حاضر در کارآزمایی بالینی هستند، عوامل اپی ژنتیک را هدف قرار می‌دهند و سعی می‌کنند پروفایل رونویسی نابه‌جا را تغییر دهند (فصل هشتم را ببینید) (اودیا و کامپبل، ۲۰۱۶).

¹. Lysine-specific demethylase 1 (LSD1)

². Bromodomain-containing protein 4

به طور خلاصه، عوامل کروماتین به رمز درآمده در گروه پلی کومب و گروه تری توراکس برای حفظ حالت‌های دیگر رونویسی و تکوینی مورد نیاز هستند. در حالی که تصمیم‌گیری‌ها برای فعال یا خاموش کردن یک ژن توسط تنظیم‌کننده‌های ارشد گرفته می‌شود، حالت بیان به دست آمده به واسطه چشم انداز اپی ژنتیک تحمیل شده از طریق علامت‌های گروه پلی کومب یا گروه تری توراکس، می‌تواند حفظ شود و به درستی از یک نسل سلول به نسل بعدی به ارث برسد. ماهیت رقابتی و پایه‌ای گروه پلی کومب و گروه تری توراکس اجازه می‌دهد در صورت لزوم حالت‌های بیان معکوس شود و یک شبکه تنظیمی بسیار سازگار و چند منظوره ایجاد کند.

پیام کلیدی این فصل که باید به خاطر سپرد.

- سیستم گروه تری توراکس/گروه پلی کومب که شامل فعالیت‌های بازسازی کننده و تغییردهنده کروماتین است از نظر تکاملی بسیار حفاظت شده است و در بسیاری از فرایندهای سلولی اساسی نظیر حفظ حالت‌های بیان ژن کنترل شده از نظر تکوینی (حافظه سلولی)، غیرفعال سازی کروموزوم X پستانداران و شکوفایی در گیاهان، نقش دارد.
- کمپلکس‌های چندپروتئینی گروه پلی کومب در خاموشی طولانی مدت ژن‌ها نقش دارند. H3K27me3 یک شاخص سرکوب گروه پلی کومب است که با ساختارهای نوکلئوزومی متراکم مرتبط است. دمین‌های سرکوب شده گروه پلی کومب در فضای سه بعدی هسته، خوشه می‌شوند تا خاموشی پایدار ایجاد کنند.
- کمپلکس‌های گروه تری توراکس با سرکوب گروه پلی کومب مقابله می‌کنند و برای حفظ فعالیت ژنی پایدار و قابل توارث مورد نیاز هستند. H3K4me3 شاخص گروه تری توراکس است که نویسندگان و خوانندگان تغییرات هیستون را رمزگذاری می‌کنند اما همچنین اجزای کمپلکس‌های بازسازی کننده نوکلئوزوم که در بازکردن ساختار کروماتین نقش دارند را نیز رمزگذاری می‌کنند.
- LncRNAها نقش مهمی در مکانیزم خاموشی گروه پلی کومب ایفا می‌کنند. مطرح شده است که RNAهای طویل غیررمزکننده با کمپلکس‌های پروتئین گروه پلی کومب برای اضافه کردن ویژگی‌های ساختمانی، بیرون کردن کمپلکس‌های سرکوب کننده پلی کومب از عناصر پاسخ پلی کومب یا هدف قرار دادن کمپلکس‌ها به مکان‌های ژنومی خاص، برهم کنش می‌کنند.
- عدم تنظیم اجزای سیستم گروه تری توراکس/گروه پلی کومب اغلب منجر به ایجاد سرطان می‌شود. سرطان‌های اپی ژنتیکی وابسته به تجمع انحرافات ژنتیکی نیستند. بسیاری از داروهای جدید علیه تنظیم کننده‌های کروماتین در حال حاضر در کلینیک آزمایش می‌شوند.

منابع

- Achour C, Aguilo F (2018) Long non-coding RNA and Polycomb: an intricate partnership in cancer biology. *Front Biosci* 23:2106-2132.
- Akmammedov A, Geigges M, Paro R (2019) Bivalency in *Drosophila* embryos is associated with strong inducibility of Polycomb target genes. *Fly* 13(1-4):42-50. <https://doi.org/10.1080/19336934.2019.1619438>.
- Audia JE, Campbell RM (2016) Histone modifications and cancer. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 8(4):a019521. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019521>.
- Beira JV, Torres J, Paro R (2018) Signalling crosstalk during early tumorigenesis in the absence of Polycomb silencing. *PLoS Genet* 14(1):e1007187. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007187>.
- Blobel GA, Kadauke S, Wang E, Lau AW, Zuber J, Chou MM, Vakoc CR (2009) A reconfigured pattern of MLL occupancy within mitotic chromatin promotes rapid transcriptional reactivation following mitotic exit. *Mol Cell* 36(6):970-983. <https://doi.org/10.1016/j.molcel.2009.12.001>. S1097-2765(09)00904-6 [p].
- Boskovic A, Rando OJ (2018) Transgenerational epigenetic inheritance. *Annu Rev Genet* 52:21-41. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120417-031404>.
- Cavalli G, Paro R (1998) The *Drosophila* Fab-7 chromosomal element conveys epigenetic inheritance during mitosis and meiosis. *Cell* 93(4):505-518.
- Ciabrelli F, Comoglio F, Fellous S, Bonev B, Ninova M, Szabo Q, Xuereb A, Klopp C, Aravin A, Paro R, Bantignies F, Cavalli G (2017) Stable Polycomb-dependent transgenerational inheritance of chromatin states in *Drosophila*. *Nat Genet* 81:83. <https://doi.org/10.1038/ng.3848>.
- Costa S, Dean C (2019) Storing memories: the distinct phases of Polycomb-mediated silencing of *Arabidopsis* FLC. *Biochem Soc Trans* 47(4):1187-1196. <https://doi.org/10.1042/BST20190255>.
- Entreven M, Schuettengruber B, Cavalli G (2016) Regulation of genome architecture and function by polycomb proteins. *Trends Cell Biol* 26(7):511-525. <https://doi.org/10.1016/j.tcb.2016.04.009>.
- Grossniklaus U, Paro R (2014) Transcriptional silencing by polycomb-group proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6(11):a019331. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019331>.
- Grossniklaus U, Kelly B, Ferguson-Smith AC, Pembrey M, Lindquist S (2013) Transgenerational epigenetic inheritance: how important is it? *Nat Rev Genet* 14(3):228-235. <https://doi.org/10.1038/nrg3435>.
- Hadorn E (1968) Transdetermination in cells. *Sci Am* 219(5):110-114. passim
- Kingston RE, Tamkun JW (2014) Transcriptional regulation by trithorax-group proteins. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6(10):a019349. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019349>.
- Kuroda MI, Kang H, De S, Kassiss JA (2020) Dynamic competition of polycomb and trithorax in transcriptional programming. *Annu Rev Biochem* 89(1):235-253. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-120219-103641>.
- Lewis EB (1978) A gene complex controlling segmentation in *Drosophila*. *Nature* 276:565-570.
- Plys AJ, Davis CP, Kim J, Rizki G, Keenen MM, Marr SK, Kingston RE (2019) Phase separation of Polycomb-repressive complex I is governed by a charged

- disordered region of CBX2. *Genes Dev* 33(13-14):799-813. <https://www.Genesdev.org/cgi/doi/10.1101/gad.326488.119>.
- Reik W, Surani MA (2015) Germline and pluripotent stem cells. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7(11). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019422>.
- Ringrose L (2017) Noncoding RNAs in polycomb and trithorax regulation: a quantitative perspective. *Annu Rev Genet* 51(1):385-411. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-120116-023402>.
- Simon J, Chiang A, Bender W, Shimell MJ, O'Connor M (1993) Elements of the *Drosophila* bithorax complex that mediate repression by Polycomb group products. *Dev Biol* 158(1):131-144.
- Sneppen K, Ringrose L. (2019) Theoretical analysis of Polycomb-Trithorax systems predicts that poised chromatin is bistable and not bivalent. *Nat Commun* 10(1):2133. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-10130-2>.
- Struhl G, Akam M (1985) Altered distributions of Ultrabithorax transcripts in extra sex combs mutant embryos of *Drosophila*. *EMBO J* 4(12):3259-3264.
- Torres J, Monti R, Moore AL, Seimiya M, Jiang Y, Beerenwinkel N, Beisel C, Beira JV, Paro R (2018) A switch in transcription and cell fate governs the onset of an epigenetically-deregulated tumor in *Drosophila*. *clife* 7:777. <https://doi.org/10.7554/eLife.32697>.
- Voigt P, Tee W-W, Reinberg D (2013) A double take on bivalent promoters. *Genes Dev* 27(12):1318-1338. <https://doi.org/10.1101/gad.219626.113>.
- Wolpert L, Tickle C, Martinez AC (2015) Principles of development. Oxford University Press, Oxford.

فصل چهارم

سیستم‌های جبران دُز

مطالبی که در این فصل یاد خواهید گرفت

در این فصل نگرشی بر سیستم‌های جبران دُز در سطح کروموزوم ارائه می‌دهیم. ما تکامل جبران دُز را بررسی خواهیم کرد که تصور می‌شود به وسیله ظهور کروموزوم‌های جنسی متمایز پدید می‌آید. در زیرمجموعه گونه‌های با تعیین جنسیت کروموزومی X یا سیستم‌های کروموزومی جنسی XY ، بیان ژن‌های مرتبط با X با تغییرات در سطح کروموزومی تنظیم می‌شود که تفاوت بیان ژن تعیین نر و ماده را یکسان می‌کند. مکانیزم‌های مولکولی جبران دُز در کل کروموزوم X در مگس‌ها، کرم‌ها و پستانداران مطالعه شده است. هریک از این گونه‌ها از استراتژی جبران دُز مشخصی با مکانیزم مولکولی متفاوت استفاده می‌کنند. در کرم سی الگانس، بیان در دو کروموزوم X هرمافرودیت‌ها به میزانی کاهش پیدا می‌کند که تقریباً به اندازه کروموزوم X تکی در نرها است. مگس سرکه با افزایش رونویسی کروموزوم X تکی در نرها به سطحی شبیه دو کروموزوم X در ماده‌ها به جبران دُز می‌رسد. در نهایت در پستانداران یکی از دو کروموزوم X در سلول‌های ماده از نظر رونویسی غیرفعال است و کروموزوم X تکی در هردو جنس رونویسی می‌شود. مطالعات سیستم‌های جبران دُز بینش‌هایی را در مورد اینکه چگونه تنظیم اپی ژنتیک، بیان ژن و سازماندهی کروماتین را به‌طور متفاوت در سلول کنترل می‌کند، ارائه می‌دهد.

۴-۱- مقدمه : تکامل جبران دُز در گستره کروموزوم

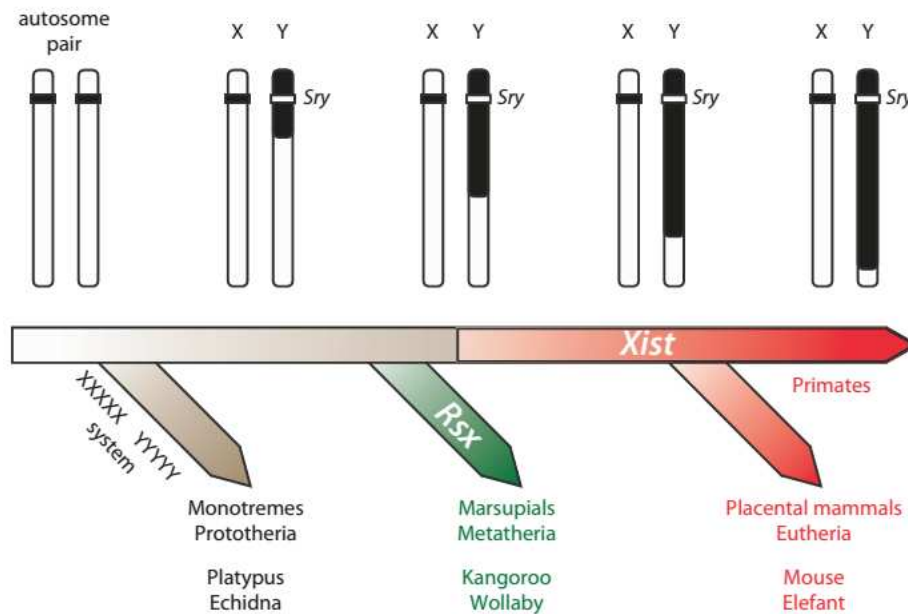
تولیدمثل جنسی را تقریباً در تمام شاخه‌های حیوانات می‌توان مشاهده کرد. استراتژی‌های متفاوت تعیین جنسیت، از تعیین براساس شرایط محیطی از جمله دما تا تعیین جنسیت ژنتیکی با ژن‌های تعیین جنسیت خاص تکامل یافته‌اند (باچتروگ و همکاران، ۲۰۱۴). سیستم‌های تعیین جنسیت امکان تکوین فنوتیپ‌های دوشکلی نرها و ماده‌ها را در یک گونه فراهم می‌کند. در این فصل تعیین جنسیت کروموزومی مورد توجه اصلی است؛ زیرا تفاوت ساختاری کروموزوم‌های جنسی موقعیتی را برای تکامل سیستم‌های جبران دُز فراهم می‌کند. در پرندگان، نرها دارای دو کروموزوم Z و ماده‌ها دارای کروموزوم‌های هترومورفیک Z و W هستند. در پستانداران نرها دارای ساختار کروموزومی جنسی XY و ماده‌ها دارای ساختار جنسی XX هستند (گریوز، ۲۰۱۵). طیف گسترده‌ای از سیستم‌های کروموزوم جنسی XO و XY و ZW در خزندگان، دوزیستان، ماهی‌ها و حشرات ثبت شده است (کایسر و باچتروگ، ۲۰۱۰). با این همه، محتوای ژن کروموزوم‌های جنسی متفاوت است. به‌عنوان مثال سیستم‌های ZW پرند و مار متفاوت هستند، از این رو به‌طور مستقل تکامل پیدا کرده‌اند. کروموزوم‌های جنسی یک گونه می‌تواند با اتوزوم‌های مختلف، متناظر باشد این امر نشان می‌دهد که کروموزوم‌های جنسی از تغییر جفت‌های اتوزومی نشأت می‌گیرند. به‌تازگی فهمیدند که چگونه اتوزوم‌ها برای تبدیل شدن به کروموزوم‌های جنسی انتخاب می‌شوند. تکامل بر روی کروموزوم‌های جنسی

به روش‌های مختلفی که وابسته به گونه، کروموزوم و موقعیت هسته است، عمل می‌کند (بلوت و همکاران، ۲۰۱۰). ایده کلی این است که یک جایگاه تعیین‌کننده جنسی روی یک اتوزوم اجدادی به وجود می‌آید که یک کروموزوم پیش‌جنسی را تشکیل می‌دهد. ازدست‌دادن بعدی توالی‌ها (ساییدگی) روی کروموزوم‌های پیش‌جنسی، جفت اتوموزوم اجدادی را به یک جفت کروموزوم جنسی دوشکلی تبدیل می‌کند (شکل ۴-۱).

ساییدگی کروموزوم‌های جنسی به‌عنوان پیامد سرکوب نوترکیبی توضیح داده شده است. این امر احتمالاً می‌تواند با وارونگی‌های بزرگ در مجاورت ناحیه تعیین‌کننده جنسیت، تسهیل شود. نوترکیبی سرکوب‌شده، پیوند ژنتیکی بین ژن تعیین‌کننده جنسیت و ژن‌هایی را تسهیل می‌کند که برای یک جنس مفید ولی برای جنس دیگر مضر هستند. به‌عنوان مثال، ژن‌هایی که برای تکوین بیضه لازم هستند روی کروموزوم Y پستانداران به همراه ژن ناحیه تعیین‌کننده جنسیت Y^۱ قرار دارند که جنسیت نر را مشخص می‌کنند. از آنجایی که ماده‌ها کروموزوم Y را به ارث نمی‌برند، هیچ پیامد مضر از ژن‌های مرتبط با Y برای آن‌ها وجود ندارد. تخمین زده می‌شود، سیستم کروموزوم جنسی XY پستانداران جفتی از جمله انسان حدود ۲۱۰ میلیون سال پیش تکامل پیدا کرده‌است (مارشال گریوس، ۲۰۰۸).

کروموزوم Y موش، همه ژن‌ها بجز تعداد کمی از آن‌ها را که در تعیین جنسیت نر و تکوین بیضه عمل می‌کنند، از دست داده، درحالی‌که در پستانداران دیگر افزودن مکرر قطعات اتوزومی به جفت کروموزومی XY، کروموزوم‌های Y بزرگتر و متفاوت تولید کرده‌است. تکامل کلادهای مختلف پستانداران منجر به ساختار کروموزوم‌های جنسی متفاوت شده است. پستانداران جفت‌دار و کیسه‌دار دارای کروموزوم‌های XY هستند که از یک جفت اتوزوم اجدادی یکسان نشأت می‌گیرند. پستانداران تخم‌گذار دورتر مثال‌هایی از گونه‌های با چندین کروموزوم جنسی هستند (شکل ۴-۱). پلاتیپوس و چند گونه اکبده دارای ۵ کروموزوم X و ۵ کروموزوم Y هستند که هومولوگ کروموزوم‌های XY پستانداران جفت‌دار و کیسه‌دار نیستند ولی شباهت محدودی با کروموزوم Z پرندگان نشان می‌دهند (گریوز، ۲۰۱۵؛ ویرونس و همکاران، ۲۰۰۸). کروموزوم X انسان با ناحیه اتوزومی در پستانداران تخم‌گذار هومولوگ است. اطلاعات بیشتر در مورد تکامل سیستم‌های کروموزومی جنسی را در یک بررسی تخصصی می‌توان پیدا کرد (مارشال گریوس، ۲۰۰۸).

^۱. Sex determining region Y (SRY)



شکل ۴-۱: تکامل کروموزوم‌های جنسی در پستانداران. پستانداران جفت‌دار و کیسه‌دار دارای کروموزوم‌های جنسی XY هستند که از یک جفت اتوزوم اجدادی در حدود ۲۱۰ میلیون سال پیش منشعب شده‌اند. این کروموزوم‌های جنسی متناظر با اتوزوم‌های پستانداران تخم‌گذار هستند که یک سیستم متشکل از ۵ کروموزوم X و ۵ کروموزوم Y دارند. تکامل، کروموزوم‌های جنسی را با سایش و اضافه کردن قطعات اتوزومی به کروموزوم‌های جنسی شکل داده‌است که این امر منجر به ساختارهای کروموزوم و اگرچه بین پستانداران جفت‌دار و کیسه‌دار و نیز درون پستانداران جفت‌دار شده‌است. توالی‌هایی که به دلیل سایش در امتداد کروموزوم Y در طی تکامل از بین رفته‌اند با رنگ سیاه مشخص شده‌اند. پیامد سایش کروموزوم Y، این بود که سیستم‌های جبران دُز به وجود آمده‌است. اگرچه پستانداران جفت‌دار و کیسه‌دار دومین کروموزوم X را در سلول‌های ماده غیرفعال می‌کنند ولی جزئیات مولکولی مکانیزم‌های اساسی متفاوت است. در پستانداران جفت‌دار ژن رونوشت ویژه غیرفعال X غیرفعال‌سازی کروموزوم X را آغاز می‌کند. در کیسه‌داران ژن *RSX* به‌عنوان محرک تکامل همگرا ظهور پیدا کرده‌است.

۴-۱-۱- پیامدهای تفاوت دُز ژن ناشی از سایش کروموزوم جنسی

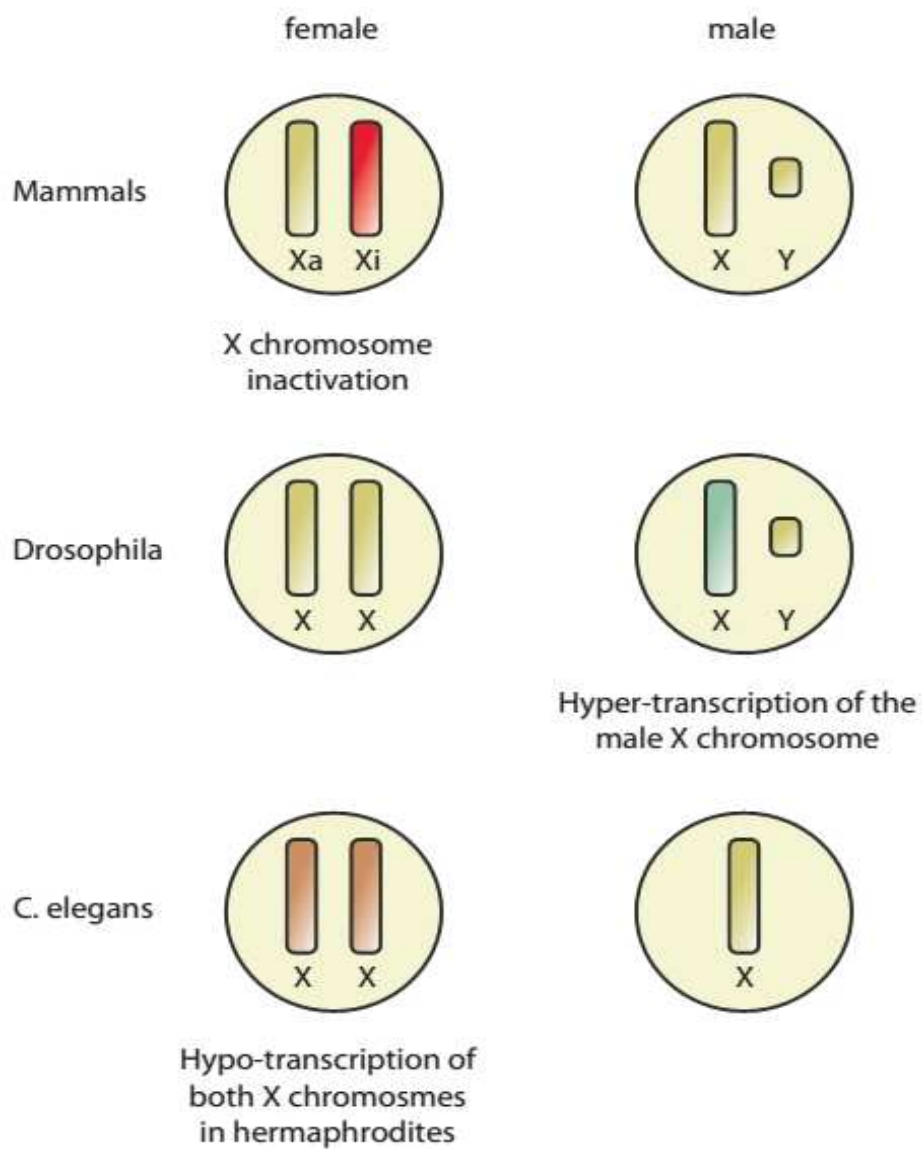
از دست دادن ژن‌های کروموزوم محدودشده جنسی Y (در پستانداران) و تکامل کروموزوم‌های جنسی دوشکلی، دو پیامد می‌تواند داشته باشد. پیامد اول، یک واگرایی از دُز ژن اجدادی از طریق سایش کروموزوم پیش جنسی نسبت به اتوزوم‌های اجدادی رخ می‌دهد. اینکه آیا کاهش سازگاری^۱ مربوطه

^۱. کاهش سازگاری ناشی از تغییر دُز ژن کروموزومی جنسی به اتوزومی با مطالعات روی مونوزومی‌های انسانی مطابقت دارد، این امر نشان می‌دهد وراثت یک اتوزوم منفرد در ژنوم دیپلوئیدی، غیر از این هزینه‌های سازگاری بالایی دارد مونوزومی‌های انسانی عموماً

تحمل می‌شود یا می‌تواند جبران شود، برای هر سیستم خاص باید مشخص شود. پیامد دوم، تفاوت دُز ژنی بین دو جنس با کوچک‌شدن تدریجی اندازه یکی از کروموزوم‌های جنسی و کاهش محتوای ژنی آن ایجاد می‌شود. این احتمال وجود دارد که فرایند سایش توسط اثرات مخرب ناشی از این تغییرات دُز ژن محدود شود؛ بنابراین همه اتوزوم‌ها ممکن است برای تشکیل کروموزوم‌های جنسی کوچک فعال نباشند. در برخی از موارد به‌نظر می‌رسد کروموزوم‌های جنسی از سایش اجتناب می‌کنند (باچتروگ و همکاران، ۲۰۱۴) که این امر ممکن است نیاز به حفظ دُز ژن اجدادی را نشان دهد و از ایجاد سیستم‌های جبران دُز جلوگیری کند.

سیستم‌های جبران دُز در گستره کروموزومی در کرم‌ها، مگس‌ها و پستانداران کشف شده است (شکل ۴-۲). در برخی گونه‌ها فرایندهای متمایزی در تنظیم تفاوت دُز بین جنس‌ها و تفاوت دُز بین کروموزوم‌های جنسی و جفت اتوزومی اجدادی دخیل هستند. این مورد در پستاندارانی است که دارای یک کروموزوم X تکی فعال در هر دو جنس هستند. خاموش کردن رونویسی یکی از دو کروموزوم X در پستانداران ماده با فرایند غیرفعال‌سازی کروموزوم X ، پستانداران ماده را به بیان ژن کروموزوم X نزدیک می‌کند. در این مورد به‌نظر می‌رسد کاهش سازگاری به دلیل پیدایش تفاوت در دُز ژن بین جنس‌ها باعث تکامل جبران دُز شده است. مکانیزم جبران X به اتوزوم ($X:A$) در پستانداران باید مشخص شود. در مقابل، در مگس میوه تنظیم کروموزوم‌های جنسی به روشی انجام می‌شود که دُز ژن بین جنس‌ها را متعادل می‌کند و میزان بیان کروموزوم X را در نرها نسبت به جفت اتوزوم اجدادی بازیابی می‌کند. این امر از طریق بیش‌فعال‌سازی رونویسی ژن‌ها در کروموزوم X در ماده‌ها است؛ بنابراین به‌نظر می‌رسد تکامل سیستم جبران دُز در مگس‌ها با تنظیم بیان مرتبط با X انجام می‌شود، به‌طوری‌که میزان بیان ژن بین جنس‌ها و نیز میزان بیان جفت اتوزومی اجدادی را حفظ می‌کند. در کرم سی‌الگانس دو کروموزوم X در هرمافرودیت‌ها تا حدی سرکوب می‌شوند تا به میزان بیان ژن تک کروموزوم X در نرها که XO هستند، نزدیک شود. در سی‌الگانس دوباره تفاوت بین جنس‌ها است که به‌نظر می‌رسد تکامل مکانیزم جبران دُز را هدایت می‌کند. تمام سیستم‌های جبران دُز مطالعه‌شده تا به امروز در چارچوب سیستم کروموزوم جنسی XO یا XY طرح شده‌اند که در آن نرها جفت کروموزومی جنسی هترومورفیک را حمل می‌کنند. تاکنون هیچ سیستم جبران دُزی در گستره کروموزومی در سیستم‌های ZW با کروموزوم‌های جنسی ماده‌های هترومورفیک شناسایی نشده است. مطابق این ایده که جبران دُز کروموزومی X در مگس‌ها، کرم‌ها و پستانداران به‌طور مستقیم تکامل یافته است، این فرایندها استراتژی‌های مولکولی مجزایی را می‌پذیرد و دارای نیازهای ژنتیکی متمایزی است.

مضر هستند، فقط مونوزومی X ؛ و مونوزوم‌های قسمت‌های کوچکتر کروموزوم‌های ۵؛ و ۱ زنده می‌مانند. تریزومی‌ها نیز مضر هستند؛ و تنها تریزومی ۱۳، ۱۸؛ و ۲۱ در انسان زنده می‌مانند؛ و به ترتیب منجر به سندرم پائائو، ادواردز؛ و داون می‌شوند.



شکل ۲-۴: مروری بر جبران دز در پستانداران، مگس‌ها و کرم‌ها. تفاوت‌های بیان ژن مرتبط با X بین جنس‌ها با استراتژی‌های مختلف جبران می‌شود. پستانداران یکی از دو کروموزوم X در سلول‌های ماده را غیرفعال می‌کنند. در ملانوگاستر، کروموزوم X نه بیش فعال می‌شود و در سی‌الگانس هر دو کروموزوم تا حدی در هرمافرودیت‌ها سرکوب می‌شوند.

۴-۲- کمپلکس جبران دُز مگس میوه (مگس سرکه معمولی)

سیستم جبران دُز مگس میوه به طور گسترده با رویکرد ژنتیک و بیوشیمیایی مطالعه شده است. مگس میوه دارای یک سیستم کروموزوم جنسی XY است که در آن یک کروموزوم X در مگس‌های نر^۱ وجود دارد. کروموزوم X نر هدف کمپلکس جبران دُز^۲ است که میزان رونویسی را افزایش می‌دهد و در نتیجه میزان بیان را به اندازه بیان دو کروموزوم X در مگس‌های ماده نزدیک می‌کند. به این ترتیب، نه تنها تفاوت بیان ژن مرتبط با X بین دو جنس بلکه نسبت X:A اجدادی نیز بازیابی می‌شود؛ بنابراین کروموزوم X نر تکی از یک جفت کروموزوم اجدادی دو X تقلید می‌کند. از نظر مفهومی، کروموزوم X تکی باید شناسایی شود تا فراتنظیم رونویسی را هدف‌گیری کند. علاوه بر این، جبران دُز باید تنظیم شود تا از رونویسی بیش از حد نابه‌جای دو کروموزوم X در ماده‌ها جلوگیری شود. در مگس میوه، جبران دُز و تعیین جنسیت از طریق یک مسیر مشترک بالادستی که تعداد کروموزوم‌های X را حس می‌کند، تنظیم می‌شود. اگر کروموزوم X تکی وجود داشته باشد این مسیر برای تنظیم تمایز جنسی مردانه واگرا می‌شود و به طور مستقل تشکیل کمپلکس جبران دُز را القا می‌کند.

اجزای کمپلکس جبران دُز در غربالگری‌های ژنتیکی برای یافتن موتاسیون‌هایی که از تکوین مگس‌های نر جلوگیری می‌کند، شناسایی شده است. عوامل کشنده خاص نر^۳ نظیر کشنده خاص نر ۱، کشنده خاص نر ۲، کشنده خاص نر ۳ و نیز کشنده نر ۴ و نرهای غایب در نخستین^۵، پروتئین‌هایی هستند که در تشکیل کمپلکس جبران دُز مشارکت دارند. ژن‌های مربوطه از نظر ژنتیکی برای تکوین نر و نه ماده، مورد نیاز هستند. قابل ذکر است که پروتئین کشنده خاص نر ۲ فقط در نرها وجود دارد ولی در ماده‌ها وجود ندارد. کشنده خاص نر ۲ از طریق آبخار تعیین جنسیت تنظیم می‌شود و برای سرهم‌بندی کمپلکس جبران دُز اساسی است. عدم وجود آن در ماده‌ها از جبران نادرست دُز هر دو کروموزوم X جلوگیری می‌کند؛ بنابراین کشنده خاص نر ۲ یک پیوند مولکولی بین حس کردن حضور کروموزوم X تکی و سرهم‌بندی کمپلکس جبران دُز ارائه می‌دهد. وقتی که کمپلکس جبران دُز در جنین‌های نر سرهم بندی می‌شود، چندین مکان روی کروموزوم X تکی هدف قرار می‌گیرد. این مکان‌ها به عنوان مکان‌های ورود کروموزوم منشعب شده‌اند؛ زیرا به نظر می‌رسد تمایل مستقلی برای اتصال کمپلکس جبران دُز ایجاد می‌کنند. این مکان‌ها بیشتر با پروتئین متصل‌شونده به DNA (CLAMP) مرتبط شده‌اند.

^۱. مگس سرکه نر دارای کروموزوم Y است؛ که حاوی تعداد کمی ژن است؛ اما جنسیت مذکر را مشخص نمی‌کند؛ بنابراین، کروموزوم Y ربطی به تعیین جنسیت در مگس‌ها ندارد.

^۲. Dosage compensation complex (DCC)

^۳. Male specific lethal (Msl)

^۴. Male lethal (Mle)

^۵. Males absent on the first (Mof)

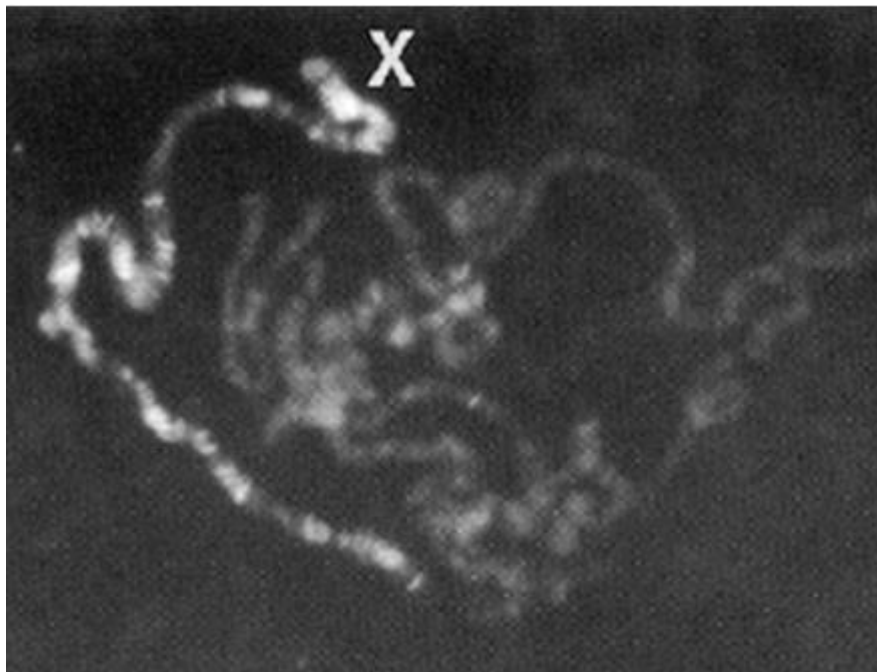
به نظر می‌رسد CLAMP برای ارتباط کمپلکس جبران دُز با مکان‌های ورود کروموزوم مورد نیاز است و علاوه بر نقش آن در جبران دُز، عملکردهای دیگری نیز دارد. از آنجایی که موتاسیون‌های مؤثر در CLAMP برای تکوین نر و ماده مضر است، نمی‌توان آن را به‌عنوان جزء کمپلکس جبران دُز در غربالگری‌های ژنتیکی اصلی شناسایی کرد.

کمپلکس جبران دُز از مکان‌های ورود کروموزوم در کل کروموزوم X پخش می‌شود. انتشار کمپلکس جبران دُز به RNA های غیر رمزکننده و RNA هلیکاز کشنده نر وابسته است. این کشف که RNA های عملکردی اجزای اساسی تقسیم جبران دُز مگس میوه هستند به‌طور ناگهانی انجام شد. دو ژن رمز کننده RNA روی X1^۱ و RNA روی X2 به‌عنوان رونوشت‌هایی جدا شدند که به‌طور خاص در نرها اما نه در ماده‌ها بیان می‌شوند. کشف آن‌ها بسیار دیرتر از شناسایی اجزای پروتئین سیستم جبران دُز انجام شد. دلیل احتمالی کشف نشدن RNA روی X1 و RNA روی X2 در غربالگری ژنتیکی این است که هر دو RNA ها از نظر عملکردی، اضافی هستند. تکوین نرها به RNA روی X1 و RNA روی X2 نیاز دارد. تنها موتاسیون‌های ترکیبی RNA روی X1 و RNA روی X2 منجر به شکست جبران دُز و مرگ نر می‌شود. تصور می‌شود که کشنده نر که یک RNA هلیکاز را رمز می‌کند، واسطه ارتباط RNA روی X1 و RNA روی X2 با کمپلکس کشنده خاص نر است. در نتیجه ارتباط کشنده نر و RNA روی X انتشار جبران دُز در مکان‌های ورود کروموزوم را به کل کروموزوم تسهیل می‌کند.

به‌کارگیری کمپلکس جبران دُز برای کروموزوم X، تغییرات کروماتین را القا می‌کند و رونویسی زیاد را تسهیل می‌کند. یک جزء مهم کمپلکس جبران دُز که در تنظیم رونویسی نقش دارد، هیستون استیل ترانسفراز Mof است. نرهای غایب در نخستین، استیل‌اسیون لیزین ۱۶ هیستون H4 روی کروموزوم X در نرها را کاتالیز می‌کند (شکل ۴-۳). در نتیجه فعالیت Mof به فعال‌سازی رونویسی کروموزوم X تکی نر کمک می‌کند، این موضوع سازگار با این ایده است که استیل‌اسیون لیزین در دم های هیستون یک نقش فعال‌کننده‌ای برای بیان ژن دارد و دسترسی به RNA را تسهیل می‌کند (به فصل اول و دوم مراجعه کنید). ارتباط این مشاهدات که لیزین ۱۶ به‌طور ویژه توسط Mof برای جبران دُز هدفگیری می‌شود باید بیشتر مورد بررسی قرار گیرد. علاوه بر این، به نظر می‌رسد که استیل‌اسیون هیستون روی کروموزوم X به‌خودی‌خود پایدار و قابل توارث نیست بلکه کماکان به به‌کارگیری کمپلکس جبران دُز بستگی دارد (جعبه ۴-۱ را ببینید). کاهش Mof یا کشنده خاص نر ۲ با مداخله RNA در کشت سلول‌های نر مگس میوه نشان داد که باعث از بین رفتن هایپراستیل‌اسیون H4K16ac روی کروموزوم X می‌شود (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰).

^۱. RNA on the X1 (roX1)

اگرچه مکانیزم جبران دُز در مگس‌ها به‌خوبی مشخص شده است ولی درک ما در این مورد کامل نیست و یقیناً اجزای اضافی مسیر جبران دُز در آینده شناسایی خواهد شد. در این زمینه جالب است بدانید که مشخص شد کیناز JIL1 مرتبط با کمپلکس جبران دُز است اما نقش آن در جبران دُز آشکار نیست.

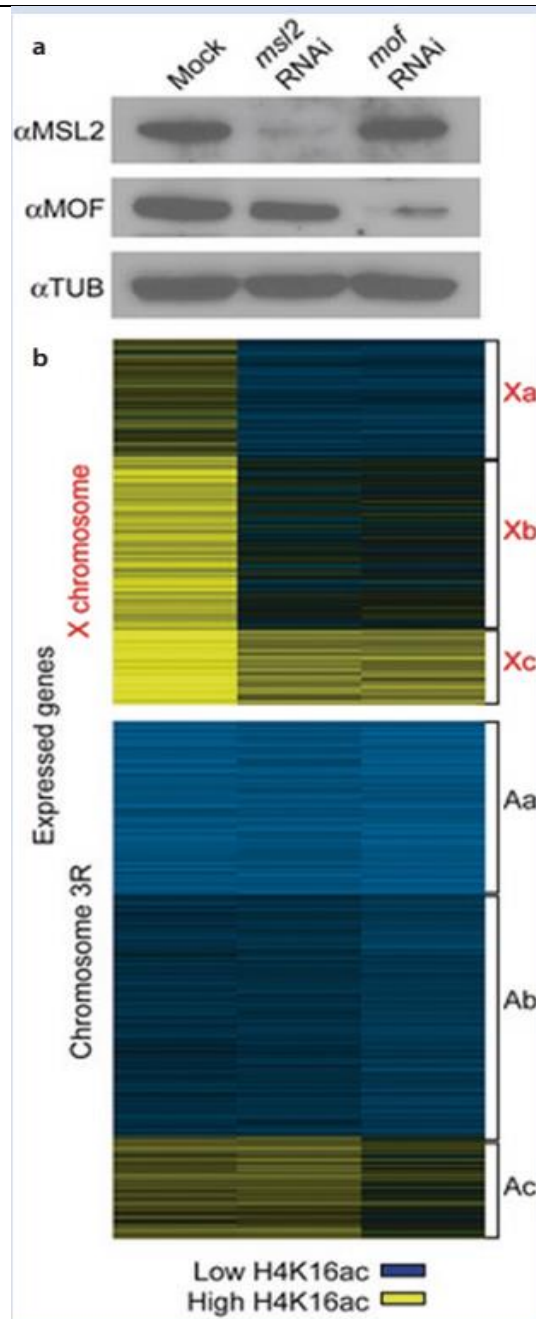


شکل ۴-۳: غنی‌سازی H4K16ac روی کروموزوم X مگس میوه نر. رنگ‌آمیزی ایمنی کروموزوم پلی‌تن پخش‌شده با آنتی‌سرم خاص H4K16ac، کروموزوم X در نرها را آشکار می‌کند. کروموزوم‌های پلی‌تن از غدد بزاقی به‌دست می‌آیند و به‌دلیل تکثیر مجدد داخلی ژنوم در این بافت پلی‌پلوئید، رشته‌های DNA زیادی دارند. این موضوع باعث می‌شود که آن‌ها برای مطالعات میکروسکوپی مناسب باشند (از بون و همکاران، ۱۹۹۴).

کادر ۴-۱ یک آزمایش مفهومی: آزمایش وراثت پذیری علائم کروماتین روی کروموزوم X مگس میوه نر.

کاهش کشنده خاص نر ۲ یا MOF از طریق مداخله RNA در سلول های S2 منجر به ازدست دادن H4K16ac در پروموتورهای ژن مرتبط با X می شود. a بررسی وسترن، فراوانی پروتئین کشنده خاص نر 2 و MOF در سلول های S2 کنترل و تیمار شده با کاهش با وساطت mof RNAi (RNAi و کشنده خاص نر ۲) را نشان می دهد. b نمایش شماتیک غنی شدن H3K16ac روی ژن های کروموزوم X و بازوی راست کروموزوم ۳ به عنوان کنترل اتوزومی. غنی شدن H4K16ac توسط chipseq تعیین شد (فصل اول کتاب را ببینید). داده ها مربوط به DNA درآمده سازی کروماتین نشان داده می شوند تا تعداد توالی مختلف در نواحی ژنومی مختلف، نرمال شود. هر خط نشان دهنده یک ژن است، هیستون ها متناظر با سلول های S2 هستند که در بالای پانل a نشان داده شده است. ژن های غنی شده (زرد) و کاهش یافته (آبی) برای H4K16ac نشان داده شده است.

سلول های S2 از جنین های مگس نر به دست آمده اند و دارای یک کروموزوم X تکی هستند که در معرض جبران دُز هستند. برعکس کروموزوم X برای H4K16ac در سلول های S2 کنترل، بسیار غنی شده است. پس از کاهش کشنده خاص نر 2 یا Mof، این غنی شدن از بین می رود و کروموزوم X شبیه کروموزوم ۳R به نظر می رسد. این امر نشان می دهد که فعالیت مداوم کمپلکس جبران دُز برای حفظ جبران دُز در سلول های S2 مورد نیاز است (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۰).

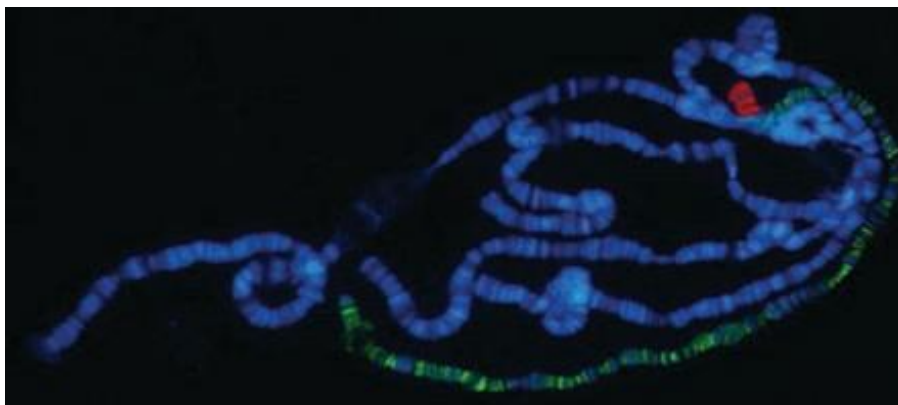


شکل کادر ۴-۱. کاهش کشنده خاص نر ۲ و Mof در سلول‌های S۲.

اجزای کمپلکس جبران دُز مگس میوه در حشرات خویشاوند ولی دور از نظر تکاملی، برای مطالعه تکامل جبران دُز بررسی شده‌اند. یک کمپلکس کشنده خاص نر در حشره خویشاوند ولی دور از نظر تکاملی مگس/ پشه قارچی وجود دارد ولی در همه کروموزوم‌های هردو جنس وجود دارد. عدم وجود تفاوت‌های خاص جنس نشان می‌دهد که کمپلکس کشنده خاص نر مگس/ پشه قارچی در جبران دُز نقش ندارد و ممکن است عملکردهای دیگری داشته باشد. این موضوع به تنوع مکانیزم‌های مولکولی برای جبران دُز در بین حشرات مختلف اشاره دارد. جالب توجه است که یک سیستم علامت گذاری مستقل در کل کروموزوم بر روی کروموزوم چهارم مگس میوه مشاهده شده است. پروتئین رنگ‌شده چهار^۱ با کروموزوم چهارم (شکل ۴-۴) در جایی که بیان ژن را تشدید می‌کند، مرتبط است (جانسون و همکاران، ۲۰۰۷). ابتدا به نظر می‌رسید پروتئین رنگ‌شده چهار ارتباطی با جبران دُز ندارد. با این حال، اخیراً ارتباط بین پروتئین رنگ‌شده چهار و کروموزوم جنسی اجدادی و سیستم جبران دُز کشف شده است (ویکوسو و باچتروگ، ۲۰۱۳). کروموزوم چهارم مگس میوه بخشی از کروموزوم جنسی سایر گونه‌های مگس است. پروتئین رنگ‌شده چهار به سمت کروموزوم X نر در مگس *busckii* و مگس *ananassae* هدف‌گیری می‌شود (استرن برگ و لارسون، ۲۰۱۱).

در مورد اخیر، پروتئین رنگ‌شده چهار همراه با H4K16ac و کمپلکس کشنده خاص نر به کار گرفته می‌شود. همپوشانی علائم کروماتین کروموزوم X و کروموزوم ۴ به درجات مختلف در گونه‌های مختلف مگس می‌تواند مشاهده شود. این مشاهدات یک منشأ مشترک را در هردو مسیر در سیستم جبران دُز اجدادی و جدایی بالقوه کروموزوم ۴ و کروموزوم X در دودمانی را که منجر به تکامل مگس میوه شد، می‌تواند نشان دهد. جالب است گمانه‌زنی کنیم که تغییرات گسترده کروموزوم ممکن است متداول تر از تعداد محدود مثال‌هایی باشد که امروزه شناخته شده است.

¹. Painting of fourth (POF)



شکل ۴-۴. علامت‌گذاری در گستره کروموزوم X و کروموزوم ۴ مگس میوه. رنگ‌آمیزی ایمنی پروتئین رنگ‌کاری کروموزوم چهار (قرمز) و کشنده خاص نر ۳ (سبز) کروموزوم‌های پلی‌تن غدد بزاقی مگس میوه نر (استرن برگ و لارسونف ۲۰۱۱).

۴-۳- غیرفعال‌سازی کروموزوم X در پستانداران

در پستانداران جبران دُز ژن‌های مرتبط با X، با سرکوب یکی از دو کروموزوم X سلول‌های ماده به دست می‌آید. غیرفعال‌سازی کروموزوم X تضمین می‌کند که در هر دو جنس یک کروموزوم X تکی فعال باقی بماند. این شیوه جبران دُز ممکن است غیرقابل درک‌تر از سیستم مگس میوه به نظر برسد؛ زیرا نسبت بیان ژن اجدادی X:A از $2X:2A$ به $1X:2A$ تغییر کرده است. تغییر نسبی دُز X:A مرتبط با تکامل سیستم کروموزوم XY پستانداران می‌تواند سازگاری راکاهش دهد. علاوه بر این، موتاسیون‌های روی کروموزوم تکی X که در هر دو جنس رونویسی می‌شود، از نظر عملکردی همی زیگوت هستند و باعث فنوتیپ‌های با سرعتی بالاتر نسبت به موتاسیون‌های مطلوب روی اتوزوم‌هایی می‌شود که در آن مکمل‌سازی توسط هومولوگ امکان‌پذیر است.

قابل‌ذکر است، انتخاب تصادفی این‌که کدام کروموزوم X در پستانداران جفت‌دار غیرفعال می‌شود تا حدودی از ماده‌ها در برابر همی‌زیگوتی مرتبط با X محافظت می‌کند. ماده‌ها متشکل از موزائیک ژنتیکی از سلول‌هایی هستند که هر کروموزوم X را بیان می‌کنند. از این رو در مورد موتاسیون هتروزیگوت نیمی از سلول‌ها ژن کامل را بیان می‌کنند. با این حال هنوز مشخص نشده است که تا چه حد هزینه‌های سازگاری ناشی از تکامل کروموزوم جنسی پستانداران و سیستم جبران دُز جذب شده است. اگرچه تکامل غیرفعال‌سازی کروموزوم X تا حد زیادی نامشخص است ولی یک سناریوی بالقوه ممکن است این باشد که از گسترش غیرفعال‌سازی میوزی کروموزوم‌های جفت‌نشده ناشی شده باشد. غیرفعال‌سازی کروماتین جنسی میوزی^۱ فرایندی است که منجر به غیرفعال‌سازی رونویسی

^۱. Meiotic sex chromatin inactivation (MSCI)

کروموزوم‌های جفت‌نشده در میوز طی تکوین سلول زایا می‌شود. این فرایند در طیف وسیعی از گونه‌های جانوری مشاهده شده است. تصور می‌شود که غیرفعال‌سازی به کروموزوم‌های جفت‌نشده امکان می‌دهد تا از طریق میوز عبور کنند. فعال‌سازی مجدد غیرفعال‌سازی کروماتین جنسی میوزی به‌طور طبیعی بعد از لقاح یعنی زمانی که تکوین جنین شروع می‌شود، رخ می‌دهد.

شاید بتوان حدس زد که تداوم غیرفعال‌سازی کروماتین جنسی میوزی کروموزوم X پدری ممکن است در پستانداران تکامل یافته باشد. از آنجایی که کروموزوم X پدری در میوز نر (XY) تا حد زیادی جفت نشده است، خاموشی از طریق غیرفعال‌سازی کروماتین جنسی میوزی آغاز می‌شود. در پستانداران کیسه‌دار غیرفعال‌سازی رونویسی کروموزوم X به‌ارث‌رسیده از پدر مشاهده می‌شود که نشان می‌دهد غیرفعال‌سازی کروموزوم X نشانه‌گذاری شده در کیسه‌داران ممکن است بر اساس مکانیزم‌هایی باشد که خاموشی غیرفعال‌سازی کروماتین جنسی میوزی را گسترش می‌دهد. فرایند غیرفعال‌سازی کروموزوم X تصادفی در پستانداران جفت‌دار چالش بزرگ‌تری برای توضیح‌دادن، مطرح می‌کند. هر هسته سلول ماده دارای دو کروموزوم X بالقوه از نظر ژنتیکی یکسان است که به موجب آن یکی غیرفعال می‌شود و دیگری فعال باقی می‌ماند. از این‌رو دو کروموزوم در یک هسته سرنوشت متفاوتی دارند؛ بنابراین یک مکانیزم پیچیده و جدید باید در از هم جداشدن پستانداران جفت‌دار و کیسه‌دار ایجاد شود.

۴-۳-۱- مکانیزم جبران دُز در پستانداران

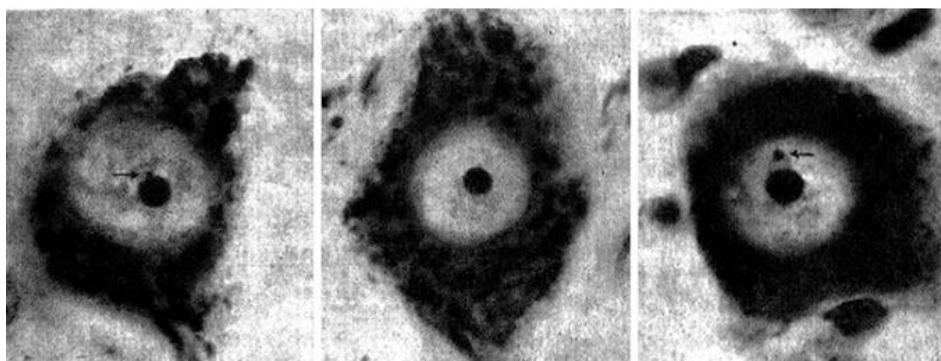
کروموزوم X غیرفعال^۱ هنگامی که نقطه تیره‌رنگی در هسته نورون‌های مغز گربه ماده مشاهده شد، به‌طور ناگهانی کشف شد (شکل ۴-۵). این نقطه در نورون‌های گربه نر وجود نداشت (شکل ۴-۵). بعد از این مطالعه، کروموزوم X غیرفعال با اقتباس از نام کاشف آن به نام محاوره‌ای جسم بار نامیده شد (بار و برترام، ۱۹۴۹). مطالعات بعدی هویت جسم بار را به‌عنوان کروموزوم X غیرفعال و فرایند غیرفعال‌سازی تصادفی X را نشان داد. یک بینش کلیدی در مورد مکانیزم، شناسایی رونوشتی بود که فقط در سلول‌های ماده بیان می‌شود و روی کروموزوم X به‌رمز درمی‌آید. ژن رونوشت ویژه غیرفعال X^۲ ابتدا در انسان‌ها شناسایی شد و نشان داد که یک RNA عملکردی تولید می‌کند که با کروموزوم X غیرفعال مرتبط است. رونوشت ویژه غیرفعال X در ناحیه‌ای از کروموزوم X قرار دارد که دارای تنظیم‌کننده‌های اضافی جبران دُز است که با همدیگر مرکز غیرفعال‌سازی X^۳ را تشکیل می‌دهند. مرکز غیرفعال‌سازی X شامل عناصری است که اشاره به حضور کروموزوم X دارد و در

^۱. Inactive X chromosome (Xi)

^۲. *X inactive specific transcript (XIST)*

^۳. X inactivation center (XIC)

صورت حضور بیش از یک عنصر، بیان رونوشت ویژه غیرفعال X را تنظیم می‌کند. بیان رونوشت ویژه غیرفعال X مقدم بر سرکوب رونویسی ژن‌ها روی کروموزوم X غیرفعال است؛ بنابراین رونوشت ویژه غیرفعال X یک راه‌حل جذاب برای محدود کردن جبران دُز به یکی از دو کروموزوم X در سلول‌های ماده است. رونوشت ویژه غیرفعال X به صورت اختصاصی با کروموزومی که از آن تولید می‌شود، مرتبط است. کروموزوم X ی که رونوشت ویژه غیرفعال X را بیان نمی‌کند، فعال باقی می‌ماند. از آنجایی که سلول‌های نر فقط دارای یک کروموزوم X تکی فعال هستند به‌طور کلی آن‌ها رونوشت ویژه غیرفعال X را بیان نمی‌کنند. از نظر مفهومی این موضوع مطرح می‌شود که چگونه رونوشت ویژه غیرفعال X هنگامی که بیشتر پروموتورهای ژن غیرفعال هستند، از سرکوب خود بر روی کروموزوم X غیرفعال جلوگیری می‌کند. در واقع تعدادی از ژن‌ها شناخته شده‌اند که از غیرفعال‌سازی X فرار می‌کنند و در کروموزوم X غیرفعال، بیان شده باقی می‌مانند. این مشاهدات به وجود عناصر کنترل بیان خاص در پروموتورهای رونوشت ویژه غیرفعال X و ژن‌ها اشاره می‌کند که از غیرفعال شدن X فرار می‌کنند ولی این جنبه به‌طور کامل شناخته نشده است.



شکل ۴-۵: کروموزوم X غیرفعال در نورون‌های گربه‌های ماده مشاهده شد. تصاویر میکروسکوپی نورون‌های رنگ‌آمیزی شده گربه، سلول را تیره و هسته را روشن نشان می‌دهد. در داخل هسته نقطه گرد تیره بزرگ، هستک است. نزدیک هستک یک نقطه تیره کوچک‌تر (پیکان) در نورون‌های ماده (چپ و راست) می‌توان مشاهده کرد ولی در نرها (مرکز) دیده نمی‌شود. این کروموزوم X غیرفعال است که به خاطر کاشف آن، به آن جسم بار می‌گویند (از بار و برترام ۱۹۴۹).

جاگیری رونوشت ویژه غیرفعال X در کروموزوم X غیرفعال، تغییرات کروماتین و بیان ژن را القا می‌کند. تشکیل کروموزوم X کاملاً غیرفعال، سپس از طریق تغییرات پی‌درپی در کروموزوم X غیرفعال رخ می‌دهد. مطالعه روی سلول‌های بنیادی جنینی^۱ موش که فرایند غیرفعال‌سازی کروموزوم X را خلاصه می‌کند منجر به مشاهده فرایند چندمرحله‌ای شده است. RNA رونوشت ویژه غیرفعال X،

^۱. Embryonic stem cells (ESCs)

تغییردهنده‌های کروماتین از جمله پروتئین‌های گروه پلی کومب و هومولوگ‌های پستانداران SPEN^۱، یک پروتئین متصل‌شونده به RNA را به کار می‌گیرد. در ابتدا سرکوب و تغییرات کروماتین به بیان رونوشت ویژه غیرفعال X وابسته هستند. فعال‌سازی مجدد و بازگشت کامل کروموزوم X به کروموزوم فعال، وقتی مشاهده می‌شود که رونوشت ویژه غیرفعال X از بین برود. این مرحله غیرفعال‌سازی X به عنوان مرحله شروع نامیده می‌شود، هنگامی سرکوب ژن وابسته به رونوشت ویژه غیرفعال X و تغییرات کروماتین ایجاد می‌شود که برگشت‌پذیر هستند (شکل a ۴-۶). مرحله آغاز از حفظ سرکوب ژن روی کروموزوم X غیرفعال در سلول‌های سوماتیک تمایز یافته تشخیص داده می‌شود. طی تکوین، کروموزوم X غیرفعال یک سری تغییرات کروماتین به دست می‌آورد؛ زیرا سلول‌ها به انواع سلول‌های بالغ بافت، تمایز پیدا می‌کند. تغییرات کروماتین در کروموزوم X غیرفعال شامل قراردادن هیستون H2A نوع ماکرو H2A، ازدست‌دادن هیستون H4 و متیله‌شدن DNA در پروموتورهای ژن سرکوب شده است. در این مرحله، رونوشت ویژه غیرفعال X برای حفظ سرکوب ژن روی کروموزوم X غیرفعال ضروری می‌شود؛ بنابراین حالت سرکوب‌شده به شیوه‌ای قابل توارث بدون رونوشت ویژه غیرفعال X همیشگی می‌شود. حفظ پایدار سرکوب ژن که مستقل از رونوشت ویژه غیرفعال X است فاز نگهداری غیرفعال‌سازی کروموزوم X را مشخص می‌کند (شکل a ۴-۶). این واقعیت که رونوشت ویژه غیرفعال X که راه‌انداز اولیه سرکوب است دیگر برای مرحله نگهداری مورد نیاز نیست، ویژگی‌های حافظه اپی ژنتیک را نشان می‌دهد (به فصل سوم کتاب مراجعه کنید).

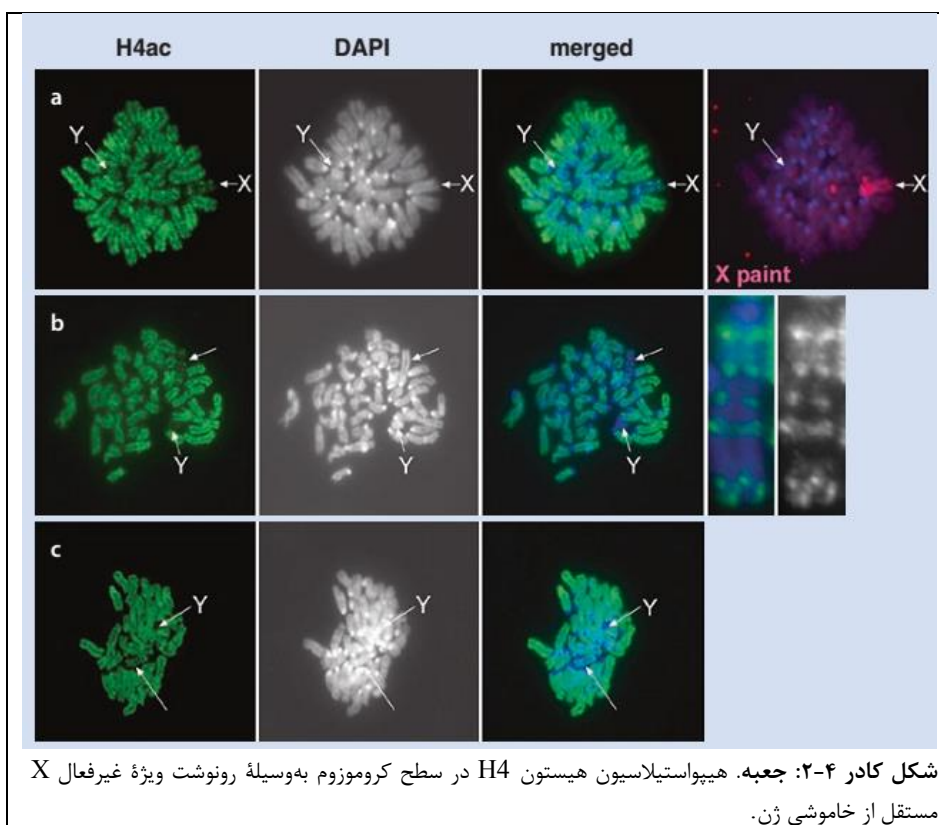
رونوشت ویژه غیرفعال X یک RNA طویل است که فاقد چارچوب خواندن به رمز درآورنده پروتئین‌ها است. این مشاهده همراه با جاگیری آن روی کروموزوم X غیرفعال نشان می‌دهد که محصول عملکردی ژن رونوشت ویژه غیرفعال X یک رونوشت است، به جای اینکه یک پروتئین باشد. تعداد عناصر با موتیف‌های توالی تکرار شده در طول RNA رونوشت ویژه غیرفعال X شناسایی شده‌اند. حذف یکی از این عناصر تکرار شده در انتهای ۵ رونوشت ویژه غیرفعال X که به آن تکرار A رونوشت ویژه غیرفعال X گفته می‌شود، عملکرد رونوشت ویژه غیرفعال X برای سرکوب ژن را منسوخ می‌کند (شکل b ۴-۶). در این مورد می‌توان بسیاری از تغییرات کروماتین را روی کروموزوم X پوشیده‌شده با رونوشت ویژه غیرفعال X مستقل از سرکوب ژن، مشاهده کرد (کادر ۴-۲). این امر یک مشکل مفهومی را بیان می‌کند: چگونه ژن‌ها می‌توانند روی یک کروموزوم که تغییرات مرتبط با هتروکروماتین را حمل می‌کند، فعال باقی بمانند؟ یک توضیح بالقوه جداسازی فضایی هتروکروماتین و ژن‌ها است. ژن‌ها به نظر می‌رسد در پیرامون قلمرو کروموزوم X قرار می‌گیرند جایی که با دمین RNA رونوشت ویژه غیرفعال X همپوشانی ندارند. RNA رونوشت ویژه غیرفعال X یک دمین غنی

^۱. *Split ends* (SPEN)

شده در تغییرات هتروکروماتیک ایجاد می‌کنند و یک قسمت سرکوب‌کننده در هسته مرکزی قلمروی کروموزوم تشکیل می‌دهد (فصل اول کتاب را ببینید). تکرار A رونوشت ویژه غیرفعال X برای سرکوب ژن‌ها مورد نیاز است ولی برای تشکیل بخش سرکوبگر لازم نیست. هنگامی که ژن‌ها سرکوب می‌شوند آن‌ها با هتروکروماتین در ارتباط هستند. باین حال اگر تکرار A از رونوشت ویژه غیرفعال X حذف شود سرکوب ژن و ارتباط با قسمت سرکوبگر مشاهده نمی‌شود. این مطالعات نشان می‌دهد که دو نوع کروماتین در ابتدا روی کروموزوم X غیرفعال تشخیص داده می‌شود و سازماندهی فضایی کروماتین ممکن است نقش مهمی طی شروع غیرفعال‌سازی کروماتین بازی کند.

کادر ۲-۴: یک آزمایش مفهومی: جداسازی سرکوب ژن و تغییرات کروماتین روی کروموزوم X موش (شکل ۲-۴).

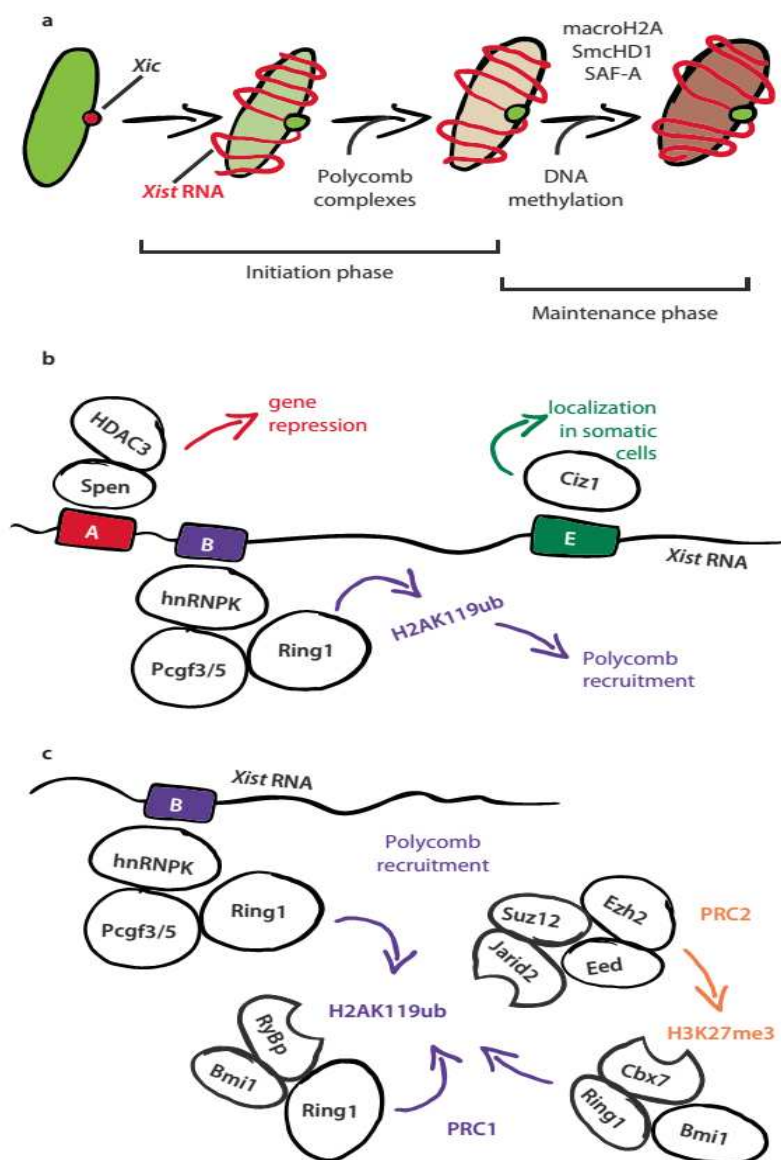
بیان RNA رونوشت ویژه غیرفعال X بدون تکرار A منجر به تغییرات کروماتین در کل کروموزوم می‌شود اما از سرکوب ژن‌های مرتبط با X جلوگیری می‌کند. سیستم بیان هترولوگ در سلول‌های بنیادی جنینی نرها برای وارد کردن بیان رونوشت ویژه غیرفعال X بدون تکرار A مهندسی شده است. a رنگ آمیزی با یک آنتی‌سرم مخصوص برای هیستون H4 استیل (سبز) یک کروموزوم هیپواستیل تکی را نشان می‌دهد که توسط DNA FISH با استفاده از رنگ کروموزوم X (قرمز) به عنوان کروموزوم X شناخته می‌شود. b هیپواستیل‌سیون هیستون H4 حتی پس از ۹ روز تمایز مشاهده می‌شود؛ این امر سازگار با مشاهداتی است که ژن‌های مرتبط با X بیان می‌شوند. در این آزمایش یک آرایش جدید کروموزوم که تغییرات کروماتین مرتبط با کروموزوم X غیرفعال و ژن‌های فعال را حمل می‌کند نمایش داده می‌شود. یک نمای بزرگ‌نمایی شده این Xiang (برای کروموزوم X غیرفعال با ژن‌های فعال) در سمت راست نشان داده شده است. قابل ذکر است نوارهای کروماتین حاوی هیستون H4 استیل‌شده را می‌توان تشخیص داد که در یک کروموزوم X غیرفعال خاموش وجود ندارد. این نوارهای کروماتین فعال ممکن است خوشه‌های ژن‌های فعال را نشان دهند که از نظر فضایی از هتروکروماتین جدا شده‌اند (از پولیرش و همکاران، ۲۰۱۰).



مکانیزم سرکوب ژن از طریق رونوشت ویژه غیرفعال X بررسی شده است. پروتئین متصل شونده به RNA، SPEN، RNA، به تکرار A رونوشت ویژه غیرفعال X (شکل b ۴-۶) متصل می شود و برای عملکرد رونوشت ویژه غیرفعال X در بیان ژن مورد نیاز است. موتاسیون هایی مؤثر بر فنوکپی SPEN، حذف تکرار A رونوشت ویژه غیرفعال X در سلول های بنیادی جنینی کشت شده موش را نشان می دهد. SPEN با کمپلکس های سرکوبگر NCoR/SMRT که دارای هیستون داستیلاز 3 هستند، مرتبط است. مورد اخیر نشان می دهد که هیستون داستیلایسیون به مسیر خاموشی ژن رونوشت ویژه غیرفعال X کمک می کند. یک پرسش مفهومی مهم این است که چگونه عملکرد رونوشت ویژه غیرفعال X در سرکوب ژن ها در کروموزوم X که از آن بیان می شود، می تواند جاگیری کند. پروتئین متصل شونده به RNA، hnRNPU، برای تعیین موضع RNA رونوشت ویژه غیرفعال X به کروموزوم X غیرفعال در موقعیت های سلولی خاص مورد نیاز است. شایان ذکر است، hnRNPU پروتئینی

است که با داربست هسته‌ای مرتبط است و به عنوان عامل اتصال داربست A^۱ نیز شناخته می‌شود. به نظر می‌رسد برهم‌کنش‌های با سازماندهی هسته‌ای غیرکروماتینی به تعیین موقعیت خاص رونوشت ویژه غیرفعال X در کروموزوم X غیرفعال کمک می‌کند. اخیراً پروتئین متصل‌شونده به CIZ1 نیز نشان داده شده است که برای مکان‌یابی رونوشت ویژه غیرفعال X در سلول‌های سوماتیک تمایز یافته مورد نیاز است، ولی برای سلول‌های جنینی مورد نیاز نیست. ظاهراً CIZ1 در کروموزوم X غیرفعال با واسطهٔ تکرار E رونوشت ویژه غیرفعال X غنی شده است (شکل b ۴-۶).

^۱. Scaffold attachment factor A (SAF-A)



شکل ۴-۶. خاموش کردن ژن در کل کروموزوم طی غیرفعال سازی کروموزوم X. a تغییرات تکوینی کروماتین روی کروموزوم X غیرفعال با مرحله شروع و حفظ مرحله غیرفعال سازی کروموزوم X همسو می شود. b برهم کنش مولکولی تکرارهای A، E و B نشان داده شده است. c به کارگیری کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ و کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ در غیر فعال سازی کروموزوم X نشان داده شده است. این مسیرها منجر به تغییرات کل کروموزوم کروموزوم X غیرفعال با H3K27me3 و H2AK119ub می شود.

طی مرحله آغاز غیرفعال سازی کروموزوم X پروتئین های گروه پلی کومب (فصل سه را ببینید) جذب کروموزوم X غیرفعال می شوند. این مکانیزم به کارگیری وابسته به RNA رونوشت ویژه غیرفعال X به تفصیل بررسی شده است. پروتئین متصل شونده به RNA، hnRNPK برای به کارگیری گروه پلی کومب به کروموزوم X غیرفعال مورد نیاز است. تکرار C و تکرار B رونوشت ویژه غیرفعال X نشان دهنده مکان های اتصال برای hnRNPK هستند. ابتدا یک کمپلکس شامل پروتئین های گروه پلی کومب، PCGF3 یا PCGF5 و زیرواحد کاتالیک کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱، RING1B توسط hnRNPK برای رونوشت ویژه غیرفعال X به کار گرفته می شود. این کمپلکس غیرمعمول کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱، یوبی کوئیتینیلایسون لیزین ۱۱۹ هیستون H2A (H2AK119ub) را میانجی گری می کند. این تغییر دو عملکرد دارد. اول، کمپلکس های کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ اضافی دارای RyBb را که تمایل به H2AK119ub دارد، می تواند به کار بگیرد. دوم، Jarid2 به H2AK119ub متصل می شود و کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ را فعال می کند. کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ دارای هیستون متیل ترانسفراز H2E2H2 است و تری متیلایسون لیزین ۲۷ هیستون H3 (H3K27me3) را در کروموزوم X غیرفعال کاتالیز می کند. H3K27me3 به نوبت می تواند به کارگیری کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ را از طریق پروتئین EED که تمایل به H3K27me3 دارد، افزایش دهد. علاوه بر این، به کارگیری کمپلکس های کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ متعارف از طریق زیرواحد CBX7 که دارای کرومودمین با تمایل به H3K27me3 است، وساطت می شود. چندین برهم کنش بین پروتئین های گروه پلی کومپ و تغییرات هیستون یک حلقه پیش نورد تولید می کند که منجر به غنی سازی قوی پروتئین های گروه پلی کومپ بر روی کروموزوم X غیرفعال می شود (شکل ۴b-۶).

انتشار کمپلکس های گروه پلی کومپ منجر به مقادیر زیاد فعالیت تغییردهنده هیستون می شود و بنابراین تقریباً تمام هیستون H3 در کروموزوم X غیرفعال دارای تغییر H3K27me3 هستند. چندین برهم کنش بین کمپلکس های گروه پلی کومپ به این سیستم تغییر کروماتین استحکام اساسی می بخشد. به نظر می رسد غیرفعال سازی تصادفی کروموزوم X هنگامی که پروتئین های گروه پلی کومپ تکی موتاسیون پیدا کنند تأثیر قابل ملاحظه ای ندارد. موتاسیون در ژن EED فعالیت کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ را کاهش می دهد و استقرار H3K27me3 روی کروموزوم X غیرفعال را مسدود می کند ولی به کارگیری کمپلکس های کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱، ایجاد H2AK119ub و سرکوب ژن رامسدود نمی کند. علاوه بر این، به نظر می رسد به خدمت گرفتن های اضافی برای به کارگیری پروتئین های گروه پلی کومپ به کروموزوم X غیرفعال وجود داشته باشد. به عنوان مثال، کاهش SPEN ها نشان داده است مقدار کمپلکس های گروه پلی کومپ که در رونوشت ویژه غیرفعال X به کار گرفته می شوند، کاهش پیدا می کند. با این حال، مشخص نیست که آیا

SPEN مستقیماً با کمپلکس‌های گروه پلی کومپ برهم‌کنش دارد یا غیرمستقیماً با تأثیر گذاری بر سرکوب ژن یا تغییر RNA رونوشت ویژه غیرفعال X اثری روی به‌کارگیری گروه پلی کومپ می‌گذارد. قابل توجه است که به‌نظر می‌رسد تخلیه تکرار A رونوشت ویژه غیرفعال X تأثیر کمتری بر به‌کارگیری گروه پلی کومپ توسط رونوشت ویژه غیرفعال X نسبت به موتاسیون SPEN دارد. مطالعات آینده برای توضیح این مشاهدات مورد نیاز خواهد بود.

عوامل دیگری که در شروع غیرفعالسازی کروموزوم X نقش دارند عبارت‌اند از گیرنده B لامین^۱ و یک کمپلکس که متیلاسیون آدنین روی RNA را وساطت می‌کند. این احتمال وجود دارد که چندین مسیر مولکولی به‌صورت موازی عمل کنند و تلفیق آن‌ها باعث عملکرد سرکوب‌کننده و مکان یابی برجسته RNA رونوشت ویژه غیرفعال X شود. از نظر مفهومی، وسوسه‌انگیز است که حدس بزنیم RNA رونوشت ویژه غیرفعال X ممکن است دارای چندین مکان اتصال برای کمپلکس‌های مختلف باشد. تکرار C, B, A و E مثال‌هایی برای پشتیبانی از این دیدگاه است (شکل ۴b-۶)؛ بنابراین غیرفعالسازی X ممکن است عملکردهای تلفیقی جدید اجزای مولکولی را که نقش‌های دیگری در فرایندهای زیستی متمایز دارند، معرفی کند.

در حفظ غیرفعالسازی کروموزوم X، عوامل دیگری غیر از شروع آن نقش دارند. پروتئین حفظ ساختاری کروموزوم‌های غیرمعمول SmcHD1 در یک غربال ژنتیکی در موش شناسایی شده است. یک موتاسیون در SmcHD1 باعث مرگ ویژه ماده می‌شود که این امر نقش آن در جبران دُز را نشان می‌دهد (بلویت و همکاران، ۲۰۰۸).

مطالعات بعدی نشان داد که SmcHD1 برای حفظ سرکوب ژن و متیلاسیون DNA پروموتور در سلول‌های سوماتیک مورد نیاز است. در مقابل آغاز غیرفعالسازی کروموزوم X تا حد زیادی تحت تأثیر موتاسیون در SmcHD1 قرار نمی‌گیرد. SmcHD1 از نظر مفهومی مهم است؛ زیرا مثال نادری از ژنی است که موتاسیون آن باعث مرگ ویژه جنس در پستانداران می‌شود (یکی دیگر از آن‌ها رونوشت ویژه غیرفعال X است). بسیاری از اجزای سیستم جبران دُز دارای عملکردهای اضافی هستند که در نرها هم مورد نیاز است. به‌عنوان مثال موتاسیون hnRNPK در موش‌های هردو جنس، کشنده جنینی است (گالاردو و همکاران، ۲۰۱۵).

اگرچه بیشتر ژن‌های روی کروموزوم X غیرفعال از نظر رونویسی خاموش هستند ولی ژن‌های خاصی روی کروموزوم X غیرفعال، فعال باقی می‌مانند. برخی از این ژن‌ها درنواحی کروموزوم X قرار دارند که با کروموزوم Y هومولوگ هستند و اطلاعات ژنتیکی را از طریق نوترکیبی طی میوز در سلول‌های زایای نر از طریق جفت‌شدن X-Y مبادله می‌کنند. ژن‌های موجود در این مناطق شبه

^۱. Lamin B receptor (LBR)

^۲. Structural maintenance of chromosomes (SMC)

اتوزومی^۱ کروموزوم X مشابه ژنهای اتوزومی در دو نسخه در هردو جنس، وجود دارند؛ بنابراین این ژن‌ها به جبران دُز نیاز ندارند و از نظر رونویسی روی کروموزوم X غیرفعال، فعال باقی می‌مانند. علاوه بر این چندین ژن که هومولوگ روی کروموزوم Y ندارند در کروموزوم X غیرفعال بیان می‌شوند. این ژن‌ها به عنوان ژنهای فرار در نظر گرفته می‌شوند و به این پدیده فرار از غیرفعال شدن X می‌گویند. ژنهای فرار برای درک فنوتیپ‌هایی که از انحرافات عددی کروموزوم‌های جنسی از جمله سندورم‌های ترنر (XO) و کلاین فیلتر انسانی (XXY) ناشی می‌شوند، مهم هستند. میزان بیان ژنهای فرار از کروموزوم X غیرفعال، اغلب به سطح کروموزوم X که فعال باقی می‌ماند (Xa) نمی‌رسد. علاوه بر این، برای برخی از ژن‌ها، فرار ویژه بافت یا فرار چندشکلی در بین افراد مشاهده شده است (کارل و ویلارد ۱۹۹۹، ۲۰۰۵). ویژگی‌های مولکولی که تعیین می‌کند آیا یک ژن سرکوب می‌شود یا روی کروموزوم X غیرفعال، فعال باقی می‌ماند، باید بیشتر بررسی شود. شایان ذکر است، به نظر می‌رسد که فراوانی بیشتری از ژنهای فرار در مناطقی از کروموزوم X می‌توان مشاهده کرد که اخیراً از ادغام اتوزومی به دست آمده است. این همبستگی می‌تواند نشان دهد که ویژگی‌های کروموزومی در تکامل برای همساز کردن جبران دُز تغییر می‌کند.

۴-۳-۲- تنظیم غیرفعال سازی کروموزوم X در پستانداران مختلف

ژن رونوشت ویژه غیرفعال X قبل از شکوفایی پستانداران جفت‌دار^۲ به وجود آمد (شکل ۴-۱). با این حال، کروموزوم‌های جنسی پستانداران و سیستم‌های جبران دُز پس از ایجاد سیستم جبران دُز به تکامل ادامه دادند. حتی امروزه تکامل کماکان به ایجاد تغییرات در کروموزوم‌های جنسی و سیستم جبران دُز در بین پستانداران جفت‌دار ادامه می‌دهد که با مثال‌هایی قابل توجه می‌توان آن را نشان داد. موتاسیون‌های غالبی که سرنوشت ماده را مشخص می‌کنند در کروموزوم X موش‌های صحرایی قطبی و کوتوله آفریقایی ایجاد شده است (ویرونز و همکاران، ۲۰۱۰). در نتیجه ماده‌هایی که دارای یک کروموزوم X حامل تغییرکننده و یک کروموزوم Y (ماده‌ها X*Y) هستند را همراه XX و XX* ماده‌ها و XY نرها می‌توان مشاهده کرد. احتمالاً نسبت افزایش یافته ماده‌ها به نرها در این گونه‌ها مطلوب بود. در مقابل، عوامل تعیین جنسیت در اتوزومی جدید در گونه‌های موش خاص می‌تواند مشاهده شود (مولوگتا و همکاران، ۲۰۱۶). یک مکانیزم جدید تعیین جنسیت اتوزومی منجر به ازدست‌دادن کروموزوم جنسی دوم در موش‌های گونه *Ellobius lutescens* شده است. یک

^۱. Pseudoautosomal regions (PARs)

^۲. شکوفایی تکاملی پستانداران جفت‌دار پس از انقراض دایناسورها در ۶۵ میلیون سال پیش، رخ داد. در اواخر دوره کرتاسه، پستانداران جفت‌دار عمدتاً به صورت حیوانات کوچک شبیه موش کور ظاهر شدند؛ که از آنها گونه‌های متنوعی؛ مانند موش، خفاش، دلفین، گاو، سگ؛ و انسان تکامل پیدا کردند.

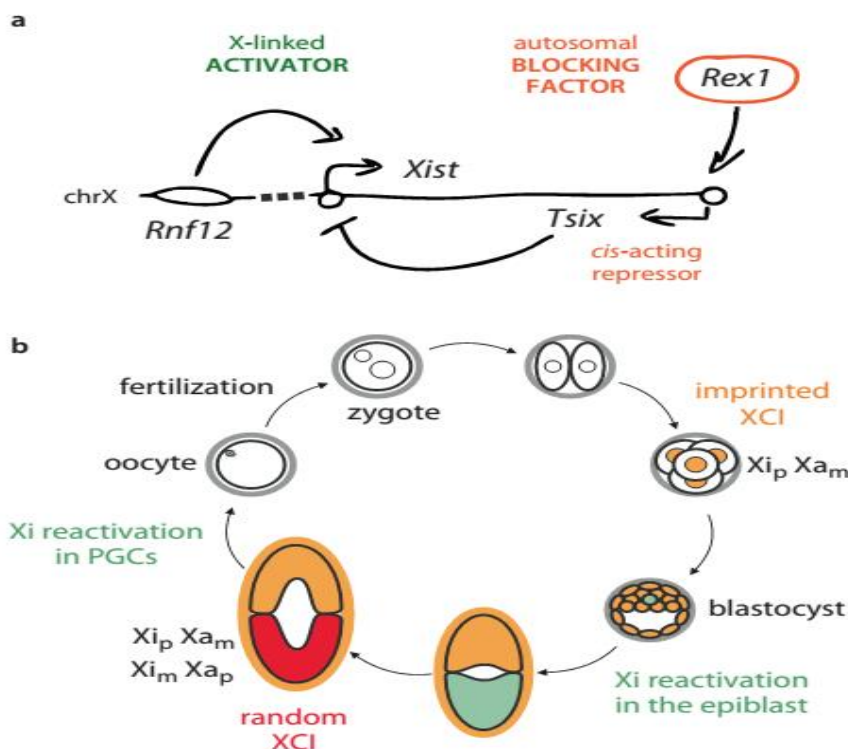
کروموزوم X تکی در نرها و ماده‌ها وجود دارد و احتمالاً غیرفعال‌سازی کروموزوم X دیگر، آغاز نمی‌شود. موش‌های گونه‌های *E. talpinus* و *E. tancrei* دارای دو کروموزوم X در هر دو جنس هستند و کروموزوم Y خود را به‌طور کامل از دست داده‌اند. این احتمال وجود دارد که غیرفعال‌سازی کروموزوم X در هر دو جنس این گونه‌ها، رخ دهد. این مثال‌ها تغییرات دراماتیک در استراتژی‌های تعیین جنسیت بین گونه‌های نزدیک را نشان می‌دهند. آن‌ها با ازدست‌دادن یا به‌دست آوردن کروموزوم‌های جنسی هترومورفیک و فرایندهای جبران دُز، همراه می‌شوند. وجود یک کروموزوم X غیرفعال در نرها و ماده‌های *E. talpinus* یادآور کروموزوم چهارم تغییر داده‌شده مگس میوه به‌عنوان یک باقی مانده تکاملی سیستم کروموزوم جنسی گذشته است.

در پستانداران جفت‌دار، خاموشی کل کروموزوم، یک پیامد بیان رونوشت ویژه غیرفعال X است؛ بنابراین تنظیم رونوشت ویژه غیرفعال X برای جبران دُز صحیح مهم است که به‌موجب آن در نرها یک کروموزوم X فعال باقی می‌ماند و در ماده‌ها یکی از دو کروموزوم X غیرفعال می‌شود. از نظر مفهومی مطرح شده است که عوامل مسدودکننده، از فعال‌سازی رونوشت ویژه غیرفعال X در سلول‌های نرها جلوگیری می‌کند. در ماده‌ها، عوامل فعال‌سازی مرتبط با X از دو کروموزوم به مقدار کافی برای مقابله با عوامل مسدودکننده، تولید می‌شود و منجر به بیان رونوشت ویژه غیرفعال X می‌شود. انتظار می‌رود عوامل مسدودکننده روی اتوزوم‌ها رمزگذاری شود و آستانه‌ای را در سلول‌های نر و ماده برای عوامل فعال‌سازی مرتبط با X تعیین کند تا بیان رونوشت ویژه غیرفعال X را القا کند. هویت این عوامل مسدودکننده و فعال‌کننده‌های مرتبط با X هنوز کاملاً شناخته نشده است ولی چندین ژن با ویژگی‌های پیش‌بینی شده شناسایی شده‌اند (شکل ۴-۷a). به‌نظر می‌رسد این ژن‌ها ویژه گونه باشند که احتمالاً بازتابی از واگرایی تکاملی پستانداران جفت‌دار هستند.

در موش‌ها ژن مرتبط با *Rnf12/RLim* می‌تواند بیان رونوشت ویژه غیرفعال X در سلول‌های بنیادی جنینی نر را هنگامی که از تراریخته بیان می‌شود، تحریک کند. این مشاهدات نشان می‌دهد که *Rnf12/RLim* یک فعال‌کننده مرتبط با X برای غیرفعال‌سازی کروموزوم X است. به‌نظر می‌رسد عملکرد *Rnf12/RLim* در جنین موش ماده محدود به شروع غیرفعال‌سازی X نشانه‌گذاری شده در جنین اولیه باشد (شکل ۴-۷b)؛ بنابراین مطرح شده است که فعال‌کننده‌های دیگر ممکن است در تنظیم غیرفعال‌سازی تصادفی کروموزوم X در موش‌ها عمل کنند.

مکانیزم عملکرد عامل مسدودکننده نیز مطالعه شده است. یک ژن بالقوه که احتمالاً در پایین دست عوامل مسدودکننده عمل می‌کند و بیان رونوشت ویژه غیرفعال X را به‌طور منفی تنظیم می‌کند، ژن RNA غیررمزکننده Tsix است که نام آن از املاي معکوس رونوشت ویژه غیرفعال X گرفته شده است زیرا در جهت آنتی سنس رونوشت ویژه غیرفعال X رونویسی شده است (شکل ۴-۷a)، Tsix، پروموتور رونوشت ویژه غیرفعال X را در همان کروموزومی که از آن بیان می‌شود، سرکوب می‌کند؛

بنابراین می‌تواند یک سرکوب‌کنندهٔ سیس در نظر گرفته شود. Tsix هدف عوامل اتوزومی است که رونویسی Tsix را تشدید می‌کند و می‌تواند به‌عنوان عوامل مسدودکننده در نظر گرفته شود (شکل ۴-۷a). در بین این عوامل چندین عامل رونویسی وجود دارد که در جنین‌های اولیه بیان می‌شوند و رونوشت ویژهٔ غیرفعال X را سرکوب می‌کند. این عوامل منحصراً در جبران دُز عمل نمی‌کنند بلکه نقش‌های دیگری نیز در تکوین جنین دارند.



شکل ۴-۷. تنظیم غیرفعال‌سازی کروموزوم X در موش. a بیان رونوشت ویژهٔ غیرفعال X از طریق فعال‌کننده‌های مرتبط با X از جمله *Rnf12* تحریک می‌شود. عوامل مسدودکننده، بیان Tsix را که یک سرکوب‌کنندهٔ سیس رونوشت ویژهٔ غیرفعال X است، افزایش می‌دهند. در نرها فعال‌کنندهٔ مرتبط با X برای غلبه بر سرکوب‌کنندهٔ عوامل مسدودکننده به اندازهٔ کافی فراوان نیست و غیرفعال‌سازی X آغاز نمی‌شود. b غیرفعال‌سازی کروموزوم X نشانه‌گذاری شده (نارنجی) و تصادفی (قرمز) در جنین‌های موش. در ابتدا کروموزوم X از طرف پدر به ارث رسیده، در جنین‌های ۴ سلولی غیرفعال شد. کروموزوم X غیرفعال در غشاهای خارجی جنینی و جفت حفظ می‌شود ولی در اپی‌پلاست دوباره فعال می‌شود. پس از لانه‌گزینی، غیرفعال‌سازی تصادفی کروموزوم X مادری یا پدری در سلول‌های جنین در حال تکوین آغاز می‌شود. هنگامی که کروموزوم X غیرفعال انتخاب می‌شود همهٔ فرزندان سلول این انتخاب را حفظ می‌کنند و باعث ایجاد موزائیک ژنتیکی تکه‌های سلول‌ها می‌شوند.

برای درک تنظیم عوامل مسدودکننده، بررسی عملکرد ژن های Tsix و رونوشت ویژه فعال X^۱ به ترتیب در موش ها و انسان ها مفید است. هر دو ژن مرتبط با X هستند و رونوشت های غیررمزکننده تولید می کنند. آن ها سرکوب کننده های سیس رونوشت ویژه غیرفعال X هستند و بیان آن ها به کروموزوم X فعال مرتبط است. با این حال، Tsix و رونوشت ویژه فعال X بین موش و انسان حفاظت شده نیستند و احتمالاً با مکانیزم های مولکولی متفاوت عمل می کنند. رونوشت ویژه فعال X یک رونوشت غیررمزکننده را رمزگذاری می کند که با قلمرو کروموزوم X فعال مرتبط است و به نظر می رسد با مکان یابی رونوشت ویژه غیرفعال X و سرکوب ژن مقابله کند. در انسان ها هر دو کروموزوم X در سلول های ماده در ابتدا رونوشت ویژه غیرفعال X را بیان می کنند ولی خاموشی ژن مرتبط با X به نظر می رسد ناقص باشد. کاهش بیان ژن ناشی از موج اولیه بیان رونوشت ویژه غیرفعال X به جای خاموش کننده بیان ژن مرتبط با X به عنوان تعدیل کننده در نظر گرفته می شود و منحصراً در انسان ها مشاهده می شود. قابل تصور است که برهم کنش آنتاگونیست بین رونوشت ویژه فعال X و رونوشت ویژه غیرفعال X به تعدیل کردن کمک کند. با پیشرفت تکوین جنین، یک کروموزوم X بیان رونوشت ویژه غیرفعال X را حفظ می کند و خاموش کردن ژن را آغاز می کند؛ درحالی که دومین کروموزوم X فعال باقی می ماند و از طریق رونوشت ویژه فعال X پوشانده می شود. بیان رونوشت ویژه فعال X با پیشرفت بیشتر تمایز سلولی متوقف می شود، این موضوع نقش خاص رونوشت ویژه فعال X در تنظیم مرحله آغاز غیرفعال سازی X را نشان می دهد. این مشاهدات که سرکوبگرهای مستقل سیس رونوشت ویژه غیرفعال X در موش ها و انسان تکامل یافته اند مدلی را مطرح می کند که در آن عوامل مسدودکننده RNA های مرتبط با X را فعال می کند و به موجب آن با آغاز غیرفعال سازی X مقابله می کنند. اگر این دیدگاه درست باشد، فراوانی عامل مسدودکننده یا فعالیت در پروموتورهای Tsix و رونوشت ویژه فعال X یکپارچه می شود.

در کیسه داران، غیرفعال شدن کروموزوم X به اثر رسیده از پدر مشاهده می شود. غیرفعال سازی X نشانه گذاری شده، از غیرفعال سازی تصادفی X که منحصر به پستانداران جفت دار است، متمایز است (شکل ۴-۱). در اپاسوم آمریکائی *Monodelphis domestica* به نظر می رسد RNA روی کروموزوم X خاموش^۲ دارای عملکردی مشابه رونوشت ویژه غیرفعال X در موش باشد (گران و همکاران، ۲۰۱۲). RNA روی کروموزوم X خاموش و رونوشت ویژه غیرفعال X، RNA های غیررمزکننده را رمزگذاری می کنند که با قلمرو کروموزوم X غیرفعال مرتبط هستند. رونوشت ویژه غیرفعال X از ژن *Ln timer* که یک ژن رمزکننده پروتئین در مهره داران موجود است، تکامل پیدا کرده است (دورت و همکاران، ۲۰۰۶). در مقابل به نظر می رسد RNA روی کروموزوم X خاموش از ژنی در

^۱. X active specific transcript

^۲. *Rsx* (RNA-on-the-silent. X)

مجاورت ژن *Hprt* که از *Lnx3* متمایز است ایجاد شده است که در کیسه‌داران به صورت رمزکننده پروتئین باقی مانده است؛ بنابراین رونوشت ویژه غیرفعال *X* و RNA روی کروموزوم *X* خاموش احتمالاً محصولات تکامل همگرا هستند؛ زیرا مکانیزم‌های جبران دُز پستانداران جفت‌دار و کیسه‌دار شباهت زیادی دارند. هردو مکانیزم شامل RNA های غیررمزکننده است و در به دست آوردن H3K27me3 روی ژن‌های مرتبط با *X* سرکوب شده نقش دارد (وانگ و همکاران، ۲۰۱۴). می‌توان حدس زد که اساس مولکولی این مکانیزم جبران دُز قبل از انشعاب پستانداران کیسه‌دار و جفت‌دار وجود داشت و احتمالاً بلافاصله بعد از انشعاب از پستانداران تخم‌گذار ظاهر شده است. واگرایی ممکن است متعاقباً به منشأ رونوشت ویژه غیرفعال *X* و RNA روی کروموزوم *X* خاموش در دودمان تبارشناسی مستقل منجر شود (شکل ۴-۱). در مقابل، جبران دُز در پلاتیپوس مشابه جبران دُز در پرندگان، جزئی و ویژه ژن به نظر می‌رسد.

۴-۴- جبران دُز کروموزوم *X* در سی‌الگانس

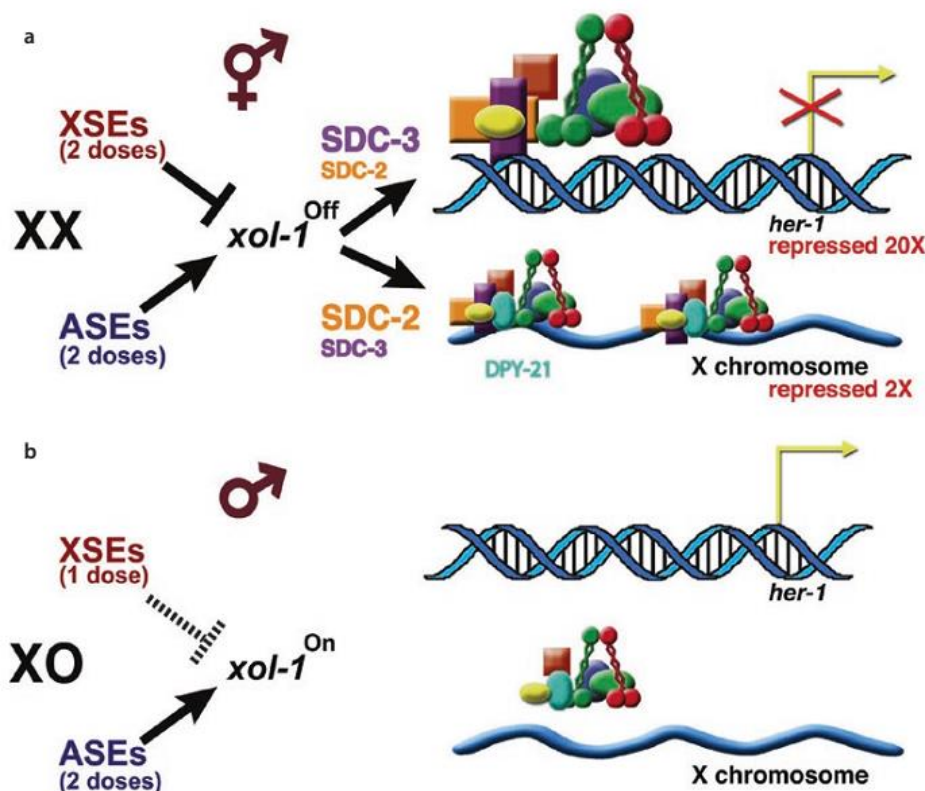
سی‌الگانس‌ها از طریق هرمافرودیت‌هایی که دارای دو کروموزوم *X* هستند و اسپرم و تخمک تولید می‌کنند، تولیدمثل می‌کنند. محرک‌های محیطی تولید نرها با کروموزوم تکی *X* اما بدون کروموزوم *Y* را القا می‌کنند. جبران دُز در کرم بیان ژن مرتبط با *X* را با کروموزوم تکی *X* در نرها برابر می‌کند؛ بنابراین ژن‌های روی هر دو کروموزوم *X* در هرمافرودیت سرکوب می‌شوند. سی‌الگانس‌ها دارای یک کمپلکس جبران دُز هستند که دارای پروتئین حفظ ساختاری کروموزوم‌ها است و شبیه یک کمپلکس مشابه کاندنسین است^۱ (فصل اول را ببینید)؛ بنابراین ترکیب کمپلکس جبران دُز مگس و کرم متفاوت است و در کرم کمپلکس جبران دُز برای هردو کروموزوم *X* هرمافرودیت به کار گرفته می‌شود. به کارگیری کمپلکس جبران دُز منجر به اختلال رونویسی می‌شود تا میزان بیان ژن را به نصف کاهش دهد و در نتیجه با کروموزوم *X* تکی نر مطابقت داشته باشد.

اجزای کمپلکس جبران دُز سی‌الگانس‌ها با غربالگری برای موتاسیون‌های کشنده ویژه جنس شناسایی شده‌اند. در حالیکه نقص‌هایی در جبران دُز باعث کشنده‌گی در مگس میوه نر می‌شود، آن‌ها منجر به کشنده‌گی هرمافرودیت‌ها در سی‌الگانس‌ها می‌شوند. پروتئین حفظ ساختاری کروموزوم‌ها، MIX-1 همراه با چندین زیرواحد که با کاندنسین مشترک هستند، کمپلکس جبران دُز را تشکیل می‌دهند (شکل ۴-۸). خانواده پروتئین‌های حفظ ساختمانی کروموزوم‌ها عملکردهایی در سازماندهی کروماتین طی تقسیم سلولی، هماهنگی بیان ژن و ترمیم DNA دارند. در مورد کمپلکس جبران دُز سی‌الگانس‌ها، پروتئین‌های حفظ ساختار کروموزوم‌ها، سرکوب جزئی رونویسی در دو کروموزوم *X*

^۱. Condensin-like complex

را میانجی‌گری می‌کند. در نتیجه جاگیری کمپلکس جبران دُز، H4K20me1 بر روی دو کروموزوم X غنی می‌شود.

در سی‌الگانس‌ها تعداد کروموزوم‌های X جنسیت را تعیین و جبران دُز را آغاز می‌کند (شکل ۴-۸). کمپلکس جبران دُز به وسیله SDC-2 درگیر می‌شود که همچنین برای سرکوب تکوین نر عمل می‌کند. SDC-2 برای هر دو کروموزوم X همراه با کمپلکس جبران دُز مکان‌یابی می‌کند. کروموزوم‌های X جبران‌شده با دُز دارای میزان پایین H4K16ac هستند. مطالعات اخیر شواهدی را ارائه کرد که با دِاستیل‌اسیون H4K16ac در اوایل تکوین کرم می‌تواند قبل از به‌کارگیری کمپلکس جبران دُز، مشاهده شود. این دِاستیل‌اسیون اولیه به‌نظر می‌رسد به یک کمپلکس شبیه کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ نیاز دارد که دارای MES2، یک هومولوگ (z) E، MES3 و MES6 است. این امر وجود مرحله آغاز و حفظ در جبران دُز سی‌الگانس را نشان می‌دهد. کمپلکس جبران دُز برای حفظ سرکوب جزئی و H4K16ac کاهش‌یافته روی کروموزوم X مورد نیاز است. این مشاهدات برخی از شباهت‌ها با جبران دُز در پستانداران را نشان می‌دهد که کروموزوم X غیرفعال دارای ویژگی‌هایی از جمله غنی‌سازی H4K20me1، هایپو‌استیل‌اسیون هیستون H4 و نیز به کارگیری کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ است. قابل توجه است SmcHD1 در حفظ کروموزوم X غیرفعال نقش دارد و دمین لولای پروتئین‌های حفظ ساختمانی کروموزوم‌ها را به‌اشتراک می‌گذارد. اگرچه رونویسی کم کروموزوم X در هرما‌فرودیت‌های سی‌الگانس ظاهراً شبیه کاهش بیان ژن مرتبط با X در مراحل اولیه جنینی انسان است ولی هرگونه شباهت مکانیکی در پژوهش‌های بعدی باید نشان داده شود. تاکنون هیچ RNA‌هایی در جبران دُز در سی‌الگانس دخیل نبوده است؛ جایی که به‌نظر می‌رسد هر دو کروموزوم در هرما‌فرودیت‌ها از طریق موتیف‌های DNA شناسایی می‌شوند. مشابه پستانداران جبران دُز در سی‌الگانس‌ها به شیوه‌ای از نظر تکوینی تنظیم‌شده آغاز می‌شود؛ بنابراین سرکوب هر دو کروموزوم X در لاین زایا مشاهده می‌شود و شامل کمپلکس شبیه کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ و H3K27me3 است. این مکانیزم سرکوب‌کننده آغازی تا حدودی در جنین باقی می‌ماند و مرحله اولیه تغییر کروموزوم X را مشخص می‌کند. مطالعات آینده نشان خواهد داد که تا چه اندازه مکانیزم‌ها برای سرکوب ژن مرتبط با X در سی‌الگانس‌ها و پستانداران همپوشانی دارند.



شکل ۴-۸. کنترل ژنتیکی تعیین جنسیت و جبران دُز در سی‌الگانس‌ها. *xol-1* ژن اصلی تعیین جنسیت است که هم تعیین جنسیت و هم جبران دُز را کنترل می‌کند. این ژن هدف مولکولی مستقیم مکانیزم شمارش کروموزوم X است که جنسیت را تعیین می‌کند. در هرمافرودیت‌های XX، دو دُز عناصر سیگنال X با غلبه بر فعال‌سازی *xol-1* حاصل از عناصر سیگنال اتوزومی، *xol-1* را سرکوب می‌کنند. سرکوب *xol-1* در سطح رونویسی و اسپلایسینگ-pr mRNA رخ می‌دهد. هنگامی که *xol-1* سرکوب می‌شود، ژن خاص X-X یعنی SDC-2 فعال است و SDC-3 را تثبیت می‌کند. SDC-2 با SDC-3 برای هدف قراردادن پروتئین‌های جبران دُز به کروموزوم X عمل می‌کند و به موجب آن بیان ژن را به نصف، سرکوب می‌کند. SDC-2 نقش راهنما را در شناسایی توالی‌های خاص X بازی می‌کند. آن تنها پروتئین جبران دُز است که فقط در حیوانات XX بیان می‌شود. SDC-2 همچنین برنامه هرمافرودیت تکوین جنسی را با سرکوب کردن ژن تعیین جنسیت خاص نر معین *her-1* فعال می‌کند. SDC-2 با SDC-3 عمل می‌کند تا پروتئین‌های جبران دُز را برای *her-1* به خدمت بگیرد. در این مورد SDC-3 نقش راهنما در شناسایی اهداف *her-1* DNA را بازی می‌کند. کمپلکس‌های *her-1* و X در یک جزء با هم تفاوت دارند: روی X است ولی در *her-1* نیست. b در نرها XO، دُز تکی عناصر سیگنال X برای غلبه اثر فعال‌کنندگی عناصر سیگنال اتوزومی کافی است. *xol-1* فعال است و با سرکوب فعالیت‌های ژن‌های *sdc* سرنوشت نر را ارتقا می‌دهد. *her-1* رونویسی می‌شود و X تکی سرکوب نمی‌شود. در جهش‌یافته‌های XO *xol-1* کمپلکس جبران دُز در کروموزوم X تکی قرار می‌گیرد و با کاهش بیان مرتبط با X، حیوانات XO را می‌کشد.

پیام کلیدی این فصل که باید به خاطر سپرد.

- سیستم‌های جبران دُز مگس‌ها، کرم‌ها و پستانداران، مکانیزم‌های مختلف را برای دستیابی به تنظیمات کروموزومی بیان ژن بین دو جنس درگیر می‌کنند.
- در مگس میوه ملانوگاستر یک کمپلکس جبران دُز فراتنظیم، ژن‌های مرتبط با X در نرها را میانجی‌گری می‌کند تا دُز ژن به میزان دو کروموزوم X را همانطور که در ماده‌ها مشاهده می‌شود، تنظیم کند.
- در پستانداران فرایند غیرفعال‌سازی کروموزوم X یکی از دو کروموزوم X در سلول‌های ماده را خاموش می‌کند و به موجب آن دُز ژن با کروموزوم X تکی نرها برابر می‌شود.
- در نماتد سی‌الگانس دو کروموزوم در هرمافرودیت‌ها به‌طور جزئی سرکوب می‌شوند و دُز ژن را به سطحی مشابه نرهایی که دارای یک کروموزوم X هستند، تعدیل می‌کنند.
- اجزای سیستم‌های جبران دُز علاوه بر جبران دُز، عملکردهایی در تکوین حیوانات نیز دارند و بنابراین می‌توانند سیستم‌های مدل برای درک تنظیم ژن در نظر گرفته شوند.
- سیستم‌های جبران پستانداران و مگس شامل RNA های غیررمزکننده طویل (*Xist*, *Rsx*, *XACT*, *roX1*, and *roX2*) به‌عنوان بخشی از مکانیزم هستند.
- مکانیزم‌های جبران دُز در گستره کروموزوم تاکنون در سیستم‌های XY تعداد کمی از گونه‌های حیوانات کشف شده‌اند، اگرچه سیستم‌های کروموزوم جنسی به‌طور گسترده در بین حیوانات و در گیاهان دو پایه توزیع می‌شوند (ویسکوت و هویزا، ۲۰۱۵). این امکان وجود دارد که معرف های مولکولی جدید، اکتشافات بعدی را تسهیل کنند. با در نظر گرفتن اکتشافات گذشته در سیستم‌های جبران دُز، تحقیق آینده در این حوزه نوید گسترش درک ما از مکانیزم‌های مولکولی و تکامل مسیرهای تنظیم ژن را می‌دهد.

منابع

- Bachtrog D, Mank JE, Peichel CL, Kirkpatrick M, Otto SP, Ashman TL, Hahn MW, Kitano J, Mayrose I, Ming R, Perrin N, Ross L, Valenzuela N, Vamossi JC, Tree of Sex C (2014) Sex determination: why so many ways of doing it? *PLoS Biol* 12(7):e1001899. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1001899>.
- Barr ML, Bertram EG (1949) A morphological distinction between neurones of the male and female, and the behaviour of the nucleolar satellite during accelerated nucleoprotein synthesis. *Nature* 163(4148):676.
- Bellott DW, Skaletsky H, Pyntikova T, Mardis ER, Graves T, Kremitzki C, Brown LG, Rozen S, Warren WC, Wilson RK, Page DC (2010) Convergent evolution of chicken Z and human X chromosomes by expansion and gene acquisition. *Nature* 466(7306):612-616. <https://doi.org/10.1038/nature09172>.
- Blewitt ME, Gendrel AV, Pang Z, Sparrow DB, Whitelaw N, Craig JM, Apedaile A, Hilton DJ, Dunwoodie SL, Brockdorff N, Kay GF, Whitelaw E (2008) SmcHDI, containing a structural- maintenance-of-chromosomes hinge domain, has a critical role in X inactivation. *Nat Genet* 40(5):663-669. <https://doi.org/10.1038/ng.142>.
- Bone JR, Lavender J, Richman R, Palmer MJ, Turner BM, Kuroda MI (1994) Acetylated histone H4 on the male X chromosome is associated with dosage compensation in *Drosophila*. *Genes Dev* 8(1):96- 104.
- Carrel L, Willard HF (1999) Heterogeneous gene expression from the inactive X chromosome: an X-linked gene that escapes X inactivation in some human cell lines but is inactivated in others. *Proc Natl Acad Sci USA* 96(13):7364-7369.
- Carrel L, Willard HF (2005) X-inactivation profile reveals extensive variability in X-linked gene expression in females. *Nature* 434(7031):400-404. <https://doi.org/10.1038/nature03479>.
- Duret L, Chureau C, Samain S, Weissenbach J, Avner P (2006) The Xist RNA gene evolved in eutherians by pseudogenization of a protein-coding gene. *Science* 312(5780):1653-1655. <https://doi.org/10.1126/science.1126316>.
- Gallardo M, Lee HJ, Zhang X, Bueso-Ramos C, Paeon LR, McArthur M, Multani A, Nazha A, Manshouri T, Parker-Thornburg J, Rapado I, Quintas-Cardama A, Kornblau SM, Martinez-Lopez J, Post SM (2015) hnRNP K is a haploinsufficient tumor suppressor that regulates proliferation and differentiation programs in hematologic malignancies. *Cancer Cell* 28(4):486-499. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.09.001>.
- Grant I, Mahadevaiah SK, Khil P, Sangrithi MN, Royo H, Duckworth I, McCarrey JR, Vande Berg JL, Renfree MB, Taylor W, Elgar G, Camerini-Otero RD, Gilchrist MJ, Turner JM (2012) Rxs is a metatherian RNA with Xist-like properties in X-chromosome inactivation. *Nature* 487(7406):254- 258. <https://doi.org/10.1038/nature11171>.
- Graves JA (2015) Weird mammals provide insights into the evolution of mammalian sex chromosomes and dosage compensation. *J Genet* 94(4):567-574.
- Johansson AM, Stenberg P, Bernhardsson C, Larsson J (2007) Painting of fourth and chromosome- wide regulation of the 4th chromosome in *Drosophila melanogaster*. *EMBO J* 26(9):2307-2316. <https://doi.org/10.1038/sj.Emboj.7601604>.

- Kaiser VB, Bachtrog D (2010) Evolution of sex chromosomes in insects. *Annu Rev Genet* 44:91-112. <https://doi.org/10.1146/annurev-genet-102209-163600>.
- Marshall Graves JA (2008) Weird animal genomes and the evolution of vertebrate sex and sex chromosomes. *Annu Rev Genet* 42:565-586. <https://doi.org/10.1146/annurev.genet.42.110807.091714>.
- Mulugeta E, Wassenaar E, Sleddens-Linkels E, van Ucken WFJ, Heard E, Grootegeed JA, Just W, Gribnau J, Baarends WM (2016) Genomes of Ellobius species provide insight into the evolutionary dynamics of mammalian sex chromosomes. *Genome Res* 26(9):1202-1210. <https://doi.org/10.1101/gr.201665.115>.
- Pullirsch D, Hartel R, Kishimoto H, Leeb M, Steiner G, Wutz A (2010) The Trithorax group protein Ash21 and Saf-A are recruited to the inactive X chromosome at the onset of stable X inactivation. *Development* 137(6):935-943. <https://doi.org/10.1242/dev.035956>.
- Ruiz MF, Esteban MR, Donoro C, Goday C, Sanchez L (2000) Evolution of dosage compensation in Diptera: the gene maleless implements dosage compensation in *Drosophila* (Brachycera suborder) but its homolog in *Sciara* (Nematocera suborder) appears to play no role in dosage compensation. *Genetics* 156(4):1853-1865.
- Stenberg P, Larsson J (2011) Buffering and the evolution of chromosome-wide gene regulation. *Chromosoma* 120(3):213-225. <https://doi.org/10.1007/s00412-011-0319-8>.
- Veyrunes F, Waters PD, Miethke P, Rens W, McMillan D, Alsop AE, Grutzner F, Deakin JE, Whittington CM, Schatzkamer K, Kremitzki CL, Graves T, Ferguson-Smith MA, Warren W, Marshall Graves JA (2008) Bird-like sex chromosomes of platypus imply recent origin of mammal sex chromosomes. *Genome Res* 18(6):965-973. <https://doi.org/10.1101/gr.7101908>.
- Veyrunes F, Chevret P, Catalan J, Castiglia R, Watson J, Dobigny G, Robinson TJ, Britton-Davidian J (2010) A novel sex determination system in a close relative of the house mouse. *Proc Biol Sci* 277(1684):1049-1056. <https://doi.org/10.1098/rspb.2009.1925>.
- Vicoso B, Bachtrog D (2013) Reversal of an ancient sex chromosome to an autosome in *Drosophila*. *Nature* 499(7458):332-335. <https://doi.org/10.1038/nature12235>.
- Vyskot B, Hobza R (2015) The genomics of plant sex chromosomes. *Plant Sci* 236:126-135. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2015.03.019>.
- Wang X, Douglas KC, Vandeberg JL, Clark AG, Samollow PB (2014) Chromosome-wide profiling of X-chromosome inactivation and epigenetic states in fetal brain and placenta of the opossum, *Monodelphis domestica*. *Genome Res* 24(1):70-83. <https://doi.org/10.1101/gr.161919.113>.
- Zhang Y, Malone JH, Powell SK, Periwai V, Spana E, Macalpine DM, Oliver B (2010) Expression in aneuploid *Drosophila* S2 cells. *PLoS Biol* 8(2):e1000320. <https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000320>.

فصل پنجم
نشانه‌گذاری کردن ژنومی

مطالبی که در این فصل یاد خواهید گرفت

یک سلول معمولی دارای دو مجموعه کروموزوم است که یکی از آن‌ها را از مادر و دیگری را از پدر دریافت کرده‌است. معمولاً ال‌های اتوزومی به‌میزان مشابهی از کروموزوم‌های به‌ارث‌رسیده از پدر و مادر بیان می‌شوند. این فصل به استثنایی از این قاعده اختصاص داده شده است: بیان ژن‌هایی که از طریق نشانه‌گذاری ژنومی تنظیم می‌شوند بسته به منشأ والدینی ال منجر به غیرهم‌ارزی ژنوم‌های مادر و پدر می‌شود. نشانه‌گذاری ژنومی یک پارادایم تنظیم ژن اپی ژنتیکی است؛ زیرا ال‌های از نظر ژنتیکی یکسان در دو حالت بیان در داخل همان هسته می‌توانند وجود داشته باشند. نشانه‌گذاری‌هایی که ال‌های والدین را علامت‌گذاری می‌کنند در لاین زایای والدین ایجاد و طی تکوین فرزندان حفظ می‌شوند ولی قبل از انتقال به نسل بعد دوباره تنظیم می‌شوند. در پستانداران نشانه‌گذاری اولیه معمولاً ناحیه به‌طور افتراقی متیله‌شده در جایگاه است ولی هم‌چنین مثال‌هایی وجود دارد که تغییرات هیستون ال‌های والدین را علامت‌دار می‌کند. بسیاری از ژن‌های نشانه‌گذاری‌شده نقش‌های مهمی در تکوین دارند و با بیماری انسان مرتبط هستند. جالب توجه است که نشانه‌گذاری ژنومی به‌طور مستقل در پستانداران و گیاهان بذری تکامل پیدا کرده‌است و مکانیزم مشابهی برای تنظیم بیان نشانه‌گذاری‌شده در دو سلسله به‌کارگرفته شده است. ما در مورد محدودیت‌های تکاملی‌ای که می‌توانستند منجر به تکامل نشانه‌گذاری ژنومی در این دودمان‌های ظاهراً مجزا شوند، بحث خواهیم کرد.

۵-۱- کشف غیرهم‌ارزی ژنوم‌های پدر و مادری

به‌طور کلی مشارکت‌های ژنتیکی پدر و مادر هم‌ارز هستند (بجز کروموزوم‌های جنسی؛ فصل چهار کتاب را ببینید) که هر کدام یک مجموعه کروموزوم را به فرزندان عرضه می‌کنند. از نظر ژنتیکی این خودش را با ماهیت مغلوب اکثریت گسترده موتاسیون‌های ازدست‌دادن عملکرد نشان می‌دهد؛ به‌عنوان مثال اگر یک ال جهش‌یافته فقط از یکی از والدین به ارث رسیده باشد نوزادان از نظر فنوتیپی از نوع وحشی هستند. مطالعات روی صفاتی که اثرات شگفت‌انگیز منشأ والد را نشان می‌دهد، غیرهم‌ارزی ژنوم‌های والدین را نشان می‌دهد و منجر به کشف نشانه‌گذاری ژنومی می‌شود.

۵-۱-۱- نشانه‌گذاری در سطح ژنومی در حشرات

اولین شواهد مبنی بر اینکه مشارکت والدین ممکن است هم‌ارز نباشد از مشاهدات سیتوژنتیک حاصل شد که چارلز متز تقریباً ۱۰۰ سال پیش انجام داد. او دریافت که طی اولین تقسیم میوزی در لاین زایای نر پشه/ مگس قارچی یک مجموعه کروموزوم، کامل حذف شده است. مطالعات ژنتیکی با

استفاده از موتاسیون مغلوب اتوزومی که بر شکل بال تأثیر می گذارد، نشان داد که فقط الل مادری به وسیله اسپرم فرستاده می شود، در حالی که کروموزوم پدری از بین رفته است. متز نتیجه گرفت (متز ۱۹۳۸): ... که اختلاف در رفتار (کروموزومها) به دلیل تفاوت کیفی کلی بین کروموزومهای پدری و مادری است... و این (اختلاف) روی کروموزومهای نسل قبل براساس جنسیت والدین تحت تأثیر قرار داده می شود. وی ادامه داد: باید تأکید کرد که این تغییرات یا تفاوت کیفی فقط برای یک نسل ادامه دارد و برگشت پذیر است. اگرچه واژه نشانه گذاری تنها توسط هلن کروس هنگام مطالعه عوامل تعیین کننده ژنتیکی حذف کروموزوم X پدری در پشه/ مگس قارچی معرفی شد، ولی نتایج متز پایه های حوزه نشانه گذاری را بنا نهاد، یعنی:

۱- رفتار متفاوت کروموزومها دلالت بر وجود تغییرات افتراقی دارد؛ به عنوان مثال نشانه گذاری ای که روی کروموزومها اتفاق می افتد.

۲- نشانه گذاریها ممکن است روی کروموزومهای پدری یا مادری یا هر دو باشد، نشانه گذاری نشان دهنده اختلاف بین آنهاست نه اینکه یک حالت مطلق باشد.

۳- نشانه گذاریها در والدین ایجاد می شود ولی در طول تکوین فرزندان باقی می ماند؛ بنابراین آنها باید طی تقسیم سلول حفظ شوند همان طور که ماده ژنتیکی تکثیر می شود.

۴- نشانه گذاریها برگشت پذیر هستند و در هر نسلی باید دوباره تنظیم شوند: هم مجموعه کروموزومهای مادری و هم مجموعه کروموزومهای پدری یک نر و یک ماده با نشانه گذاریهای پدری و مادری به فرزندان منتقل می شوند.

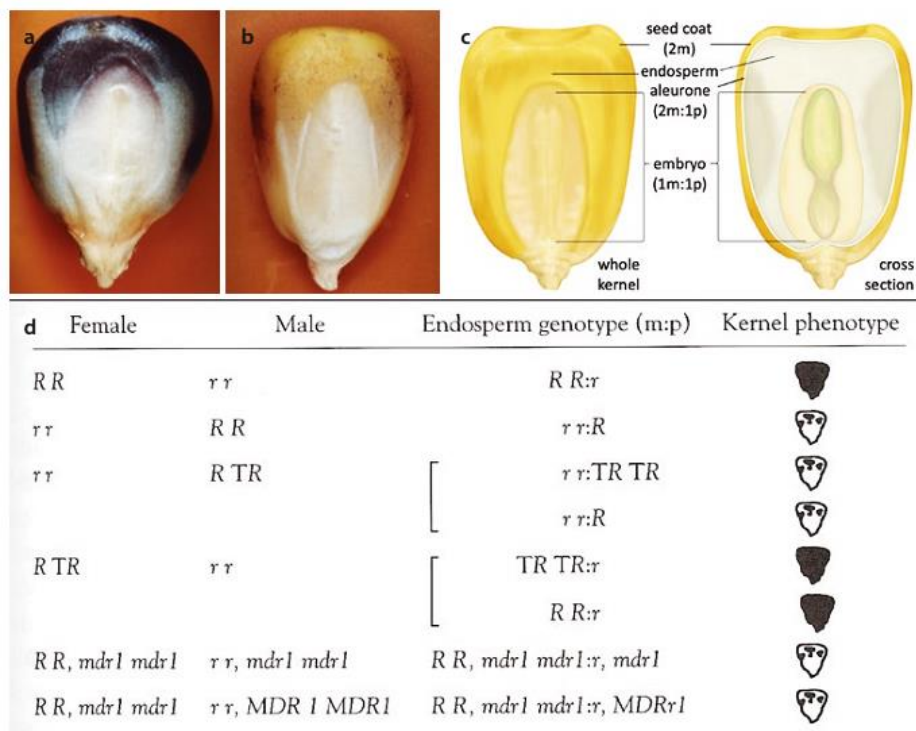
نشانه گذاری والدین هم چنین در کوکسیدها (حشرات فلس دار) به عنوان فرض پذیرفته شد که در آنها ژنوم پدری هتروکروماتینه و خاموش می شود یا حتی در اوایل دوره جنین زایی حذف می شود. اگرچه مجموعه های کروموزومی مادری و پدری در این جنینها به طور مجزا علامت گذاری می شوند (به عنوان مثال، با تفاوت در متیلاسیون DNA، H3K9me3 و H4ac)، ولی مکانیسمهای زیربنایی ایجاد، نگهداری و تنظیم مجدد نشانه گذاریها به خوبی شناخته نشده اند (سانچز، ۲۰۱۴). در حالی که مطالعات روی حشرات، چارچوبی مفهومی برای نشانه گذاریها را ارائه می دهد که کروموزومهای مادری و پدری را متمایز می کند، تمرکز این فصل روی نشانه گذاریها در کل ژنوم نیست، بلکه بیشتر بر نشانه گذاریهایی است که ژنهای تکی یا خوشه های ژنی را متمایز می کند و در نهایت منجر به بیان وابسته به منشأ والد آلل های مربوطه می شود.

۵-۱-۲- کشف نشانه گذاری ژنومی در یک جایگاه منفرد در ذرت

نشانه گذاری ژنومی که یک ژن تکی را به جای کل مجموعه کروموزوم تنظیم می کند، اولین بار هنگام مطالعه رنگ آمیزی بذر ذرت کشف شد. در گیاهان گلدار، بذرها از تخمک ها پس از لقاح مضاعف تکوین پیدا می کنند که شامل ادغام دو جفت گامت است: یک اسپرم هاپلوئید با سلول تخمک هاپلوئید ترکیب می شود و جنین دیپلوئید را تشکیل می دهد، در حالی که اسپرم هاپلوئید دوم با سلول مرکزی هومو دیپلوئید متحد می شود و به آندوسپرم تریپلوئید تکوین پیدا می کند. آندوسپرم بافتی شبیه جفت است که با تأمین مواد مغذی از تکوین جنین حمایت می کند. هر دو محصول لقاح با پوشش محافظ بذر احاطه شده اند؛ یک بافت مادری که از پوسته های تخمک حاصل می شود. در دهه ۱۹۶۰، جری کرمیکل آلل های مختلف جایگاه رنگی ۱ ($r1$) را در ذرت مطالعه کرد. آلل استاندارد R - r (از این به بعد R نامیده می شود) تولید رنگ دانه های آنتوسیانین را در آلئورون، خارجی ترین لایه آندوسپرم در بذرها (هسته ها) ذرت کنترل می کند. اگر با آلل تهی مغلوب $r-g$ (از این پس به عنوان r نامیده می شود)، تلاقی داده شود، کرمیکل مشاهده کرد در صورتی که R از مادر به ارث برسد هسته های کاملاً رنگی به دست می آید، اگر R از پدر به ارث برسد هسته های خالدار با لکه های بنفش مایل به قهوه ای به دست می آید (شکل ۵-۱).

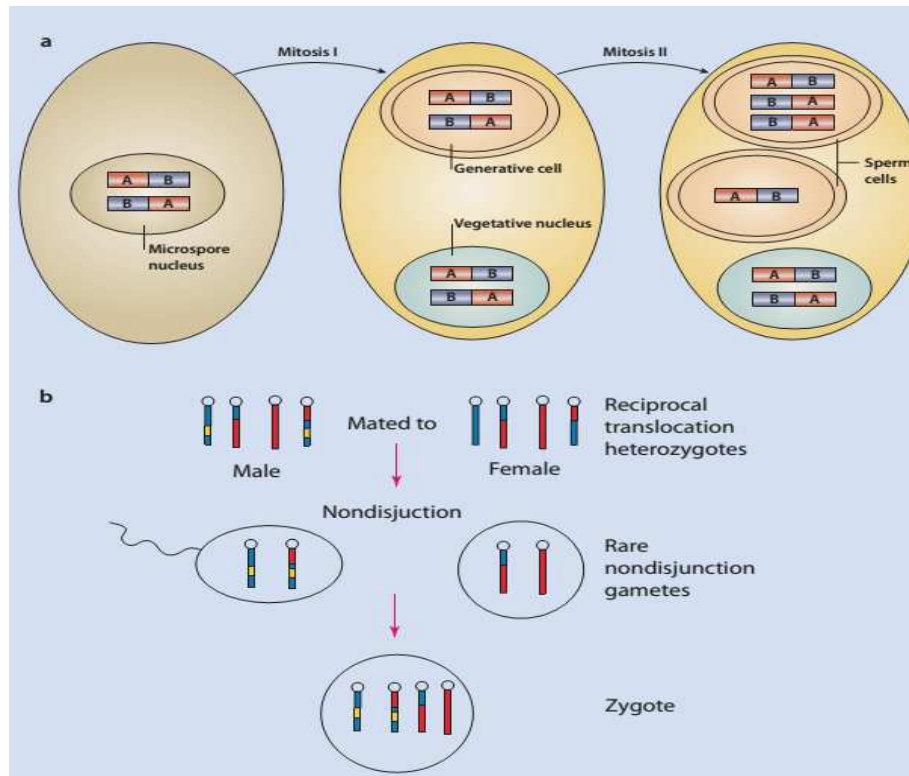
چنین تفاوتی در فنوتیپ بسته به جهت تلاقی نشان دهنده تأثیر والدین است. در این مورد، اثر مادری بر بیان R وجود دارد؛ زیرا بیشتر سلول های آلئورون اگر از پدر به ارث رسیده باشد، R را بیان نمی کنند. با این حال، چندین مکانیسم اساساً متفاوت وجود دارد که می تواند منجر به چنین تأثیر مادری ای شود و کرمیکل از یک سری آزمایشات ژنتیکی دقیق برای تمایز بین آن ها استفاده کرد (کرمیکل، ۱۹۷۰).

اثر مادری می تواند به دلیل اثر دُز در آندوسپرم تریپلوئید باشد زیرا دارای دو مجموعه کروموزوم از مادر و تنها یک مجموعه از پدر است؛ بنابراین، تعداد نسخه R در تلاقی متقابل متفاوت است و ممکن است تجمع رنگ دانه کامل نیاز به آستانه هایی داشته باشد که تنها در صورت وجود دو نسخه R به آن می رسد. برای آزمایش این فرضیه، کرمیکل از جابه جایی های $B-A$ (کادر ۵-۱) برای تولید هسته هایی با دو نسخه پدری R استفاده کرد. از آنجایی که فنوتیپ لکه دار باقی می ماند، او رد کرد که دُزهای مختلف مبنای اثر مادری باشد (شکل ۵-۱).



شکل ۵-۱: نشانه گذاری در جایگاه r1. a هسته با وراثت مادری (تجمع رنگدانه کامل) و b با وراثت پدری آلل R (تجمع رنگدانه خالدار) پس از تلاقی با آلل مغلوب بی رنگ (ایوانز و گروس نیکلاوس، ۲۰۰۸). c نمایش شماتیکی از یک هسته ذرت که ساختار ترکیبی پدر با پوشش پدر کاملاً مادری (دو ژنوم از مادر)، آندوسپرم تریپلوئید شامل آلئورون رنگدانه دار با دو ژنوم مادری و یک ژنوم پدری (2m:1p) و جنین دیپلوئید (1m:1p) را نشان می دهد (از دایره المعارف بریتانیکا). d نتایج تلاقی هایی که شامل آلل های R و r و همچنین جابه جایی TR است که در آن بازوی بلند کروموزوم A شماره ۱۰ حاوی جایگاه R به یک کروموزوم B غیرضروری منتقل می شود. چنین محموله جابه جایی B-A می توانند سلول های اسپرمی را با دو TR یا هیچ کدام تولید کند و اجازه تولید هسته هایی با دُز R متفاوت را می دهد. سرکوب مادری موتاسیون r1 (mdr1) یک عامل ترانس اکتینگ نشانه گذاری مورد نیاز برای بیان کامل آلل R به ارث رسیده از مادر را مختل می کند (از باروکس و همکاران، ۲۰۰۲).

روش‌ها کادر ۵-۱، بررسی ژنتیکی با استفاده از محموله جابه‌جایی.



شکل کادر ۵-۱. هم در ذرت و هم در موش، مطالعات ژنتیکی که برای نشان دادن نشانه‌گذاری ژنومی حیاتی بودند، به محموله جابه‌جایی متکی بودند. a کروموزوم‌های B ذرت حامل هیچ ژن ضروری نیستند، اما می‌توانند با کروموزوم‌های A طبیعی در جابه‌جایی شرکت کنند. در محصول میوزی (میکروسپور) نشان داده شده، فقط کروموزوم‌های جابه‌جایی A-B و B-A متقابل نشان داده شده است. میکروسپورها برای تشکیل اسپرم دو تقسیم می‌توزی انجام می‌دهند. در میتوز I، دودمان رویشی و زایشی از هم جدا می‌شوند، در حالی که در میتوز II، سلول زایشی یک بار دیگر تقسیم می‌شود تا دو سلول اسپرم تشکیل شود که در لقاح مضاعف شرکت خواهند کرد. کروموزوم B رفتار عجیبی روی بخش جابه‌جاشده کروموزوم A که دارای سانترومر نیست، می‌تواند ایجاد کند: طی میتوز II، عدم تفکیک باعث تولید دو اسپرم غیریکسان می‌شود که یک اسپرم بدون قابلیت جابه‌جایی B-A است و امکان دستکاری دُر برای ژن‌های موجود روی قسمت جابه‌جاشده کروموزوم A را فراهم می‌کند (از والپوت و ایوانز، ۲۰۰۳). b در موش‌ها، از هتروزیگوت‌های با جابه‌جایی متقابل متوازن برای نقشه‌برداری مناطق کروموزومی دارای جایگاه نشانه گذاری شده، استفاده شد. تلاقی چنین محموله جابه‌جایی با نشانگرهای مناسب (قطعه زردرنگ در شکل زیر) فرزندی تولید می‌کند که ژنوم کاملاً متعادلی دارند، به عنوان مثال، تمام مناطق کروموزومی در دو نسخه وجود دارند، اما قطعات جابه‌جاشده (قسمت‌های دور کروموزوم‌های قرمز و آبی) دارای منشأ والدینی یکسان هستند. اگر چنین فرزندی ناهنجاری‌های فنوتیپی را نشان دهند، بخش‌های مربوطه باید دارای ژن‌های نشانه‌گذاری شده مورد نیاز برای تکوین یا رفتار طبیعی باشند (اوکی و بیچی، ۲۰۰۲).

اثر مادری می تواند ماهیت سیتوپلاسمی داشته باشد؛ یعنی آن به اندامک ها، پروتئین ها یا RNA های تولید شده قبل از لقاح و قرارداده شده در گامت های ماده بستگی دارد. اگر تجمع رنگدانه کامل به محصولی بستگی داشته باشد که در سلول اصلی مادری ذخیره می شود، اما بعداً صرفاً در تکوین آندوسپرم مورد نیاز است، فنوتیپ مستقل از حضور آلل R مادری پس از لقاح خواهد بود. برای آزمایش این موضوع، کرمیکل از یک ترفند ژنتیکی برای القای ازدست دادن قطعه کروموزوم حامل جایگاه R در مدت کوتاهی پس از لقاح استفاده کرد و متوجه شد بخش هایی که در آن نسخه های R مادری از بین رفته بودند، خال دار هستند. از آنجایی که R هنگام تشکیل گامت های ماده وجود داشت، این آزمایش رد کرد که یک محصول سیتوپلاسمی ذخیره شده مسئول اثر مادری باشد.

با توجه به اینکه اثر مادری بر بیان R نه به دلیل دژ و نه به خاطر ماهیت سیتوپلاسمی بود، کرمیکل نتیجه گرفت که این رفتار ماهیت کروموزومی دارد، یعنی خود جایگاه R به نحوی در طول تشکیل گامت تغییر پیدا می کند و نشانه گذاری را حمل می کند که در طول تکوین حفظ شد و در نهایت بیان R را بعداً در طول تشکیل آللورون تحت تأثیر قرار داد. این یافته ها با جداسازی سرکوب مادری جهش یافته $r1$ که عامل مورد نیاز برای ایجاد حالت فعال آلل R مادری را مختل می کند، تأیید شد. حتی اگر یک نسخه وحشی MDR1 پس از لقاح وجود داشته باشد، فقط هسته های خالدار توسط ماده های جهش یافته سرکوب مادری تولید می شود. این نشان می دهد که حالت فعال R در طول گامتوژن ماده تنظیم می شود، حتی اگر آلل R مادری خیلی دیرتر در تکوین بیان شود.

به طور خلاصه، از طریق آزمایش های پیچیده ژنتیکی، کرمیکل به وضوح نشان داد که بیان همان آلل R بسته به منشأ والدین آن متفاوت است؛ بنابراین او اولین مورد نشانه گذاری ژنومی که روی یک مکان تکی به جای کل مجموعه کروموزوم تأثیر می گذارد، شناسایی کرد و نشان داد که این نوع تنظیم ژن اپی ژنتیکی می تواند روی ژن های منفرد عمل کند. این موضوع به وضوح با اثرات گسترده ژنومی که برای اولین بار در حشرات توصیف شد، متفاوت است و همچنین با سرکوب گسترده کروموزوم، مانند غیرفعال سازی کروموزوم X تصادفی یا نشانه گذاری شده، تفاوت دارد (به فصل چهارم کتاب مراجعه کنید).

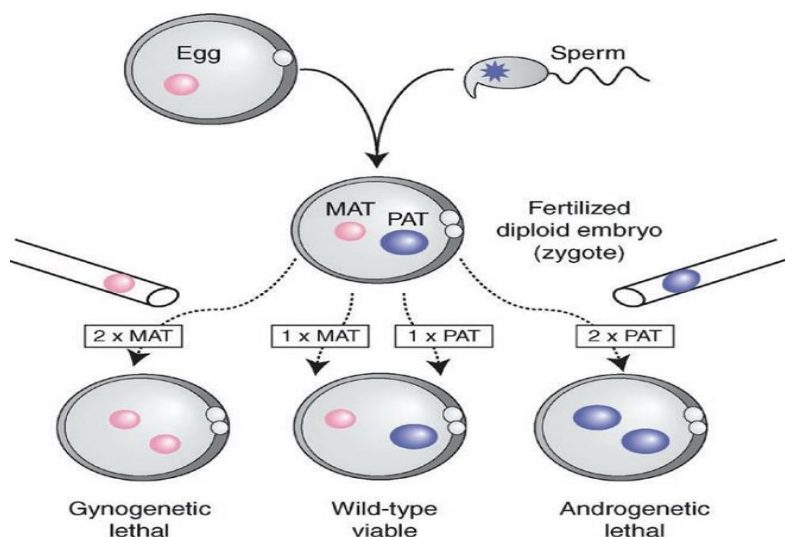
۵-۱-۳- نشان دادن غیرهم ارزی ژنوم های والدینی در پستانداران

در پستانداران همچنین، نشانه گذاری گسترده در دهه ۱۹۷۰ توصیف شد، زمانی که مشخص شد غیرفعال سازی کروموزوم X (به فصل چهارم کتاب مراجعه کنید) خاص پدری در کیسه داران و در بافت های خارج جنینی موش است (کوپر و همکاران، ۱۹۷۱). علاوه بر این، با استفاده از محموله

¹. Maternal derepression of $r1$ ($mdr1$)

جابه‌جایی (جعبه ۵-۱)، متخصصان ژنتیک موش مناطقی را با فنوتیپ‌های خاص والدین شناسایی کردند و یک اثر مادری را در موش توصیف کردند. با این حال، آن‌ها به این نتیجه نرسیدند که این موضوع به دلیل نشانه‌گذاری ژنومی باشد، اما با تفسیر اثر مادری سیتوپلاسمی تناسب داشت. این نگاه تنها با آزمایش‌های انتقال هسته‌ای منی که در گروه‌های داوور سولتر و عظیم سورانی انجام شد، تغییر کرد که به‌صراحت نشان داد ژنوم‌های مادری و پدری موش هم‌ارز نیستند (سولتر، ۱۹۸۴؛ سورانی و همکاران، ۱۹۸۴).

پس از لقاح، هسته که به‌وسیله اسپرم عرضه می‌شود غیرمتراکم می‌شود و تشکیل یک پیش هسته بزرگتر از پیش‌هسته ماده را می‌دهد و به‌راحتی قابل تشخیص است. از آنجایی که پیش‌هسته‌ها به مدت بیش از ۱۲ ساعت قابل مشاهده هستند، ژنوم‌های والدینی در زیگوت می‌توانند دستکاری شوند. سورانی و سولتر با استفاده از میکروپیپت‌ها برای حذف و اضافه کردن پیش‌هسته‌ها، زیگوت‌هایی تولید کردند که هر کدام دارای دو پیش‌هسته مادری، دو پیش‌هسته پدری یا دو پیش‌هسته یکی مادری و یکی پدری بودند (شکل ۵-۲).



شکل ۵-۲: هر دو ژنوم مادری و پدری برای جنین‌زایی طبیعی در موش مورد نیاز است. زیگوت حاوی یک پیش‌هسته مادری (صورتی) و پیش‌هسته پدری (بنفش) است که با استفاده از میکروپیپت می‌تواند دستکاری شود. با حذف و اضافه کردن پیش‌هسته‌های مختلف، ترکیب‌های زیر ایجاد شد: جنین‌های ژینوژنتیک و آندروژنتیک که به‌ترتیب دارای دو پیش‌هسته مادری یا دو پیش‌هسته پدری هستند، در طول جنین‌زایی سقط شدند، درحالی‌که جنین‌هایی که در آن موقعیت نوع وحشی با یک پیش‌هسته پدری و مادری بازآفرینی شد و به‌طور معمول تکوین پیدا کرد (از بارلو و بارتولومی، ۲۰۱۴).

فقط جنین‌هایی با ساختار دووالدینی زنده ماندند و مکان زنده ماندن تولید کردند، درحالی‌که جنین‌های ژینوژنتیک (دو ژنوم مادر) و آندروژنتیک (دو ژنوم پدری) در مراحل اولیه جنین‌زایی مردند. این نتایج به وضوح نشان داد که هر دو ژنوم مادری و پدری برای جنین‌زایی طبیعی مورد نیاز هستند و نشان می‌دهد که دو ژنوم والدین هم‌ارز نیستند. برخلاف تلاقی‌های ژنتیکی، نه دژ ژنوم و نه سیتوپلاسم زیگوت در این آزمایش‌ها تفاوت نداشتند؛ این موضوع به وجود ژن‌های نشانه‌گذاری شده اشاره می‌کند که با تنها آلل ارثی پدری یا مادری بیان می‌شوند. با این وجود، تنها با شبیه‌سازی سه ژن نشانه‌گذاری شده و نشان‌دادن بیان خاص والدین آن‌ها در اوایل دهه ۱۹۹۰ بود که ایده نشانه‌گذاری ژنومی در پستانداران مورد پذیرش گسترده قرار گرفت.

جنین در رحم‌ها که از زیگوت با فقط ژنوم‌های پدری یا مادری تکوین پیدا می‌کنند، به‌طور خودبه‌خودی در انسان نیز رخ می‌دهد و منجر به حاملگی‌های غیرطبیعی می‌شود. مول هیداتیدیفرم از زیگوت‌های آندروژنتیک مشتق شده‌اند که با لقاح یک سلول تخمک بدون هسته یا با یک اسپرم و سپس دوبرابر شدن کروموزوم یا با دو سلول اسپرم تولید می‌شود. مول هیداتیدیفرم فاقد بافت‌های جنینی تمایز یافته هستند و از سلول‌های تروفوبلاست حاصل می‌شوند که به‌طور طبیعی قسمت‌های جنینی جفت را ایجاد می‌کنند. در مقابل، تراتوم‌های خوش‌خیم تخمدان تومورهایی هستند که دارای بافت‌های تمایز یافته متفاوت هستند که اغلب شامل مو، ماهیچه و استخوان است. بیشتر تراتوم‌های تخمدان بالغ دارای دو مجموعه کروموزوم مادری و بنابراین ژینوژنوت هستند. آن‌ها از سلول‌های تخمک دارای دو ژنوم مادری به دلیل یک میوز ناب‌جا، دوبرابر شدن خودبه‌خود ژنوم یا ادغام دو سلول تخمک مشتق می‌شوند و بدون لقاح (پارتنوژنیز) تکوین پیدا می‌کنند.

۵-۲- ویژگی‌های ژن‌های نشانه‌گذاری شده در پستانداران

پس از نشان‌دادن غیرهم‌ارزی ژنوم‌های والدینی توسط سولتر و سورانی، آزمایش‌های ژنتیکی قبلی با استفاده از محموله‌های جابه‌جایی (جعبه ۵-۱) بازبینی شد و گسترش یافت که منجر به شناسایی نواحی نشانه‌گذاری شده روی ۸ اتوزوم از ۱۹ اتوزوم موش شد (اوکی و بچی، ۲۰۰۲). بیشتر این نواحی مشخص شد که هم از طرف پدر و هم از مادر مورد نیاز است، این موضوع نشان می‌دهد که آن‌ها دارای ژن‌های نشانه‌گذاری شده بیان‌شده از طرف پدر و نیز مادر هستند. جداسازی مولکولی ژن‌های نشانه‌گذاری شده تأیید کرد که آن‌ها معمولاً در خوشه‌هایی با حداقل یک ژن بیان‌شده توسط مادر و یک ژن توسط پدر رخ می‌دهند.

۵-۲-۱- ویژگی های مولکولی خوشه های ژن نشانه گذاری شده

جداسازی مولکولی ژن های نشانه گذاری شده امکان مطالعات دقیق تر در مورد مکانیسم هایی را فراهم کرد که منجر به تنظیم منحصربه فرد آن ها می شود. اولین سه جایگاه نشانه گذاری شده در اوایل دهه ۱۹۹۰ توصیف شد و از آن زمان به شدت مطالعه شده است: ژن هایی که گیرنده فاکتور رشد شبه انسولین نوع ۲^۱ (بارلو و همکاران، ۱۹۹۱)، RNA غیررمزکننده H19 (بارتولومی و همکاران، ۱۹۹۱) و فاکتور رشد شبه انسولین ۲^۲ (دچیارا و همکاران، ۱۹۹۱) را به رمز درمی آورند. تا به امروز، حدود ۱۵۰ ژن نشانه گذاری شده در موش شناخته شده است. توصیف بیشتر نشان داد که همه ژن های نشانه گذاری شده منحصراً از یک آلل والدینی بیان نمی شوند؛ در عوض، بسیاری از آن ها بیان جانبدارانه و منسجم یک آلل والدینی را نشان می دهند؛ بنابراین، تعریف نشانه گذاری ژنومی باید گسترده شود تا تمام ژن هایی که بیان غیرهم ارز از آلل های والدین را نشان می دهند، دربرگیرد. اگرچه بسیاری از ژن های نشانه گذاری شده در جفت بیان می شوند، ولی برخی از آن ها الگوی بیان نسبتاً ویژه را نشان می دهند که اغلب به بافت های بالغ مانند مغز محدود می شود. این موضوع بر یک نکته کلیدی که ابتدا توسط مترط طرح شد، تأکید می کند: در حالی که نشانه گذاری ها در طول گامت زایی ایجاد می شوند، بازخوانی آن ها، یعنی بیان ویژه و جانبدارانه یکی از آلل های والدین، می تواند خیلی دیرتر در تکوین خودش را نشان دهد؛ بنابراین، خود نشانه گذاری و اثر آن بر بیان ژن نباید اشتباه گرفته شود. برخی از ژن ها در برخی از بافت ها بیان نشانه گذاری شده را نشان می دهند اما در برخی دیگر به صورت دو آللی بیان می شوند. بیان نشانه گذاری شده همچنین می تواند مختص یک مرحله باشد که به موجب آن حتی ارتباط والدینی الل های فعال و خاموش شده در بافت های مختلف می تواند معکوس شود؛ به عبارت دیگر، تأثیر نشانه گذاری که در لاین زایا ایجاد شده است، بسته به مرحله تکوین و بافت متفاوت است. این مشاهدات مکانیسم های پیچیده ای را پیشنهاد می کنند که علامت نشانه گذاری را به یک اثر قابل تشخیص بر بیان ژن و در نهایت فنوتیپ تبدیل می کند.

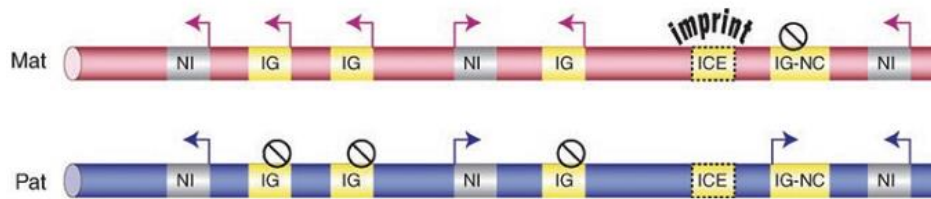
یک خوشه ژن نشانه گذاری شده معمولی هم شامل ژن های بیان شده توسط مادر و پدر و هم معمولاً ژن های بیان شده دووالدینی است (شکل ۵-۳). بیان ژن های نشانه گذاری شده توسط یک عنصر کنترل نشانه گذاری^۳ کنترل می شود. در بیشتر خوشه های ژن نشانه گذاری شده، عنصر کنترل نشانه گذاری، متیلاسیون DNA افتراقی را نشان می دهد که تنها در یکی از والدین در طول گامت زایی (نشانه گذاری گامتیک یا اولیه) ایجاد شد و سپس به طور انحصاری روی این آلل در طول تکوین پس از لقاح حفظ شد؛ بنابراین، نشانه گذاری گامتیک آلل های مادری یا پدری را به طور متفاوت در زیگوت

^۱. Insulin-like growth factor type-2 receptor (Igf2r)

^۲. Insulin-like growth factor 2 (Igf2)

^۳. Imprinting control element (ICE)

مربوطه علامت گذاری می کند. در ابتدا، همه خوشه های ژن نشانه گذاری شده مورد مطالعه در موش دارای یک نشانه گذاری گامتیک مبتنی بر ۵- متیل سیتوزین بودند (فصل اول کتاب را ببینید)، اما این موضوع در مورد ماکاها که چندین عنصر کنترل نشانه گذاری، متیلاسیون DNA افتراقی در گامت ها را نشان ندادند، صادق نیست. اخیراً نشان داده شده است که نشانه گذاری های اولیه همچنین می توانند بر اساس تغییر هیستون H3K27me3 باشد (اینو و همکاران، ۲۰۱۷). حذف عنصر کنترل نشانه گذاری، منجر به اثرات خاص منشأ والد می شود. چنین حذفی معمولاً تأثیری بر بیان ژن های روی آلل حامل علامت نشانه گذاری ندارد. در مقابل، حذف عنصر کنترل نشانه گذاری روی آلل بدون علامت نشانه گذاری گامتیک منجر به تغییر می شود، به طوری که بیان ژن های نشانه گذاری شده در خوشه ها، شبیه آلی است که به طور معمول حامل علامت نشانه گذاری است.



شکل ۵-۳: یک خوشه ژن نشانه گذاری شده معمولی با ژن های غیر نشانه گذاری شده (NI) و همچنین ژن های نشانه گذاری شده (IG) بیان شده توسط پدر و مادر. کروموزوم های مادری (Mat) و پدری (Pat) خوشه ژن نشانه گذاری شده معمولی با آلل های بیان شده (فلش) و خاموش شده (دایره اسلاش دار) نشان داده شده اند. بیشتر خوشه ها حداقل یک ژن RNA غیر رمز کننده نشانه گذاری شده دارند. بیان نشانه گذاری شده از طریق یک عنصر کنترل نشانه گذار کنترل می شود که یک علامت نشانه گذاری اپی ژنتیک را حمل می کند که در یک گامت والدین ایجاد می شود و به ارث می رسد. عنصر کنترل نشانه گذاری اغلب بیان ژن RNA غیر رمز کننده نشانه گذاری شده را کنترل می کند که نقش مهمی در تنظیم خوشه ایفا می کند (از بارلو و ذارتومومی، ۲۰۱۴).

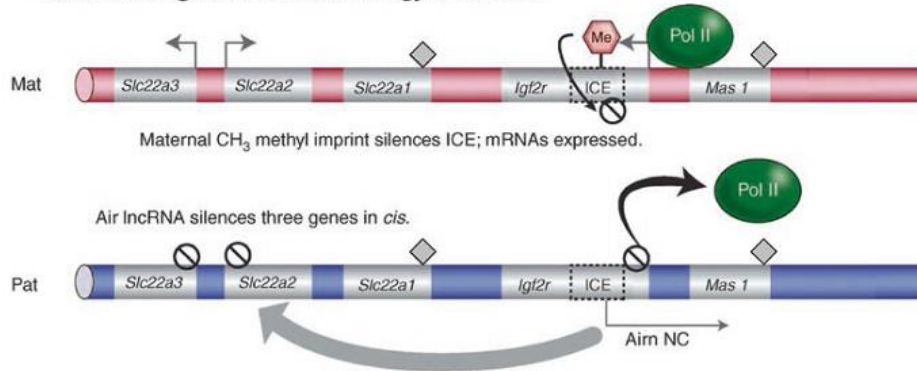
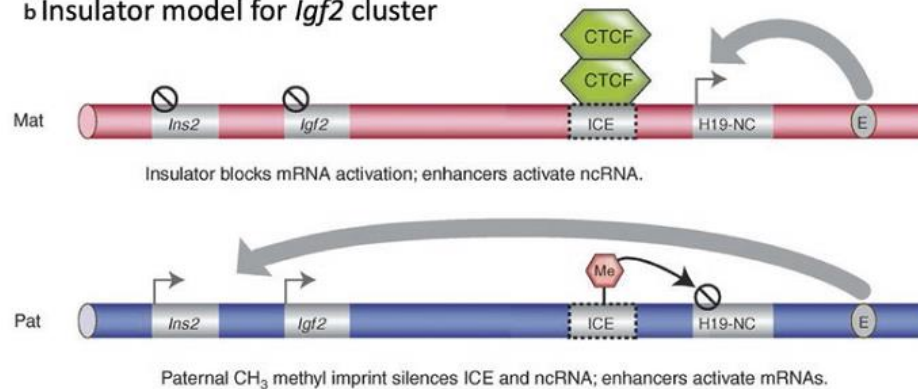
۵-۲-۲- مکانیسم های مولکولی که منجر به بیان نشانه گذاری شده می شوند

بیشتر خوشه های ژنی نشانه گذاری شده دارای حداقل یک ژن نشانه گذاری شده برای یک ژن RNA غیر رمز کننده هستند. در حالی که چندین ژن RNA غیر رمز کننده نشانه گذاری شده بسیار طولی هستند، طیفی از حدود ۱۰۰ کیلو جفت باز برای *Airm* تا بیش از ۱۰۰۰ کیلو جفت باز برای *LNCAT* و RNA غیر رمز کننده H19 با تنها ۲/۳ کیلو جفت باز وجود دارد. دو مشاهده نشان می دهد که ژن RNA غیر رمز کننده نشانه گذاری شده در تنظیم بیان نشانه گذاری شده نقش دارد. اول، ژن RNA غیر رمز کننده نشانه گذاری شده معمولاً بیان خاص والدین مخالف ژن های رمز کننده پروتئین در خوشه

¹. Imprinted, non-coding RNA gene (IG-NC)

را نشان می‌دهد و دوم، عنصر کنترل نشانه‌گذاری خوشه حامل نشانه‌گذاری گامتی معمولاً با پروموتور ژن RNA غیررمزکننده نشانه‌گذاری شده همپوشانی دارد و بیان آن را کنترل می‌کند (شکل ۴-۵). نقش RNA غیررمزکننده طویل در تنظیم بیان نشانه‌گذاری شده در چندین خوشه با کوتاه کردن آن از طریق درج یک پیام پلی‌آدنیلایسیون در جایگاه درون‌زاد آزمایش شد. کوتاه کردن *Airm*، *Kcqlot1* و *Nespas* نشان داد که بیان این RNA های غیررمزکننده طویل برای خاموش کردن آلل‌های پدری ژن‌های رمزکننده پروتئین در خوشه ضروری است. در حال حاضر مشخص نیست که چگونه آن‌ها دقیقاً ژن‌های دیگر را در سیس خاموش می‌کنند، اگرچه مدل‌های شامل تداخل RNA (فصل ششم کتاب را ببینید)، تداخل رونویسی، یا پوشاندن کروماتین موضعی و به‌کارگیری علائم سرکوب‌گر مشابه غیرفعال‌سازی کروموزوم X (فصل چهارم را ببینید) مطرح شده‌اند. در هر سه خوشه، آلل مادری، نشانه‌گذاری متیلایسیون DNA گامتی را حمل می‌کند که از رونویسی ژن RNA غیررمزکننده نشانه‌گذاری شده جلوگیری می‌کند (شکل ۴-۵a).

در مقابل، در خوشه فاکتور رشد شبه انسولین ۲ نشانه‌گذاری متیلایسیون گامتی روی آلل پدری است و حذف ژن RNA غیررمزکننده H19 هیچ اثری روی خاموش کردن الل‌های مادری فاکتور رشد شبه انسولین ۲ و *Ins2* نداشت. خوشه فاکتور رشد شبه انسولین ۲ از یک مکانیسم مبتنی بر عایق استفاده می‌کند که منجر به بیان وابسته به منشأ والد می‌شود (شکل ۴-۵b). تمام ژن‌ها در خوشه از طریق تشدیدکننده‌های مستقر در پایین‌دست ژن H19 تنظیم می‌شوند. همان‌طور که در فصل یک توضیح داده شد، ساختار کروماتین و توپولوژی در تنظیم بیان ژن مشارکت می‌کند (فصل اول کتاب را ببینید). به‌طور خاص، عامل متصل شونده به CCCTC در تشکیل عایق‌ها و حلقه‌های کروماتین نقش دارند. عنصر کنترل نشانه‌گذاری غیرمتیله که در بالادست ژن H19 قرار دارد، به‌عنوان یک محل اتصال پروتئین‌های عامل متصل‌شونده به CCCTC عمل می‌کند که تشکیل یک عایق را می‌دهد که برهم‌کنش این تشدیدکننده‌ها با پروموتورهای فاکتور رشد شبه انسولین ۲ و *Ins2* را مسدود می‌کند، درحالی‌که پروموتور H19 را فعال می‌کند. اگر عنصر کنترل نشانه‌گذاری متیله شود، پروتئین‌های عامل متصل‌شونده به CCCTC نمی‌توانند متصل شوند و عایق تشکیل نمی‌شود، بنابراین امکان برهم‌کنش تشدیدکننده‌ها با پروموتورهای دورتر ژن‌های رمزکننده پروتئین فاکتور رشد شبه انسولین ۲ و *Ins2* را فراهم می‌کند. مکان‌های اتصال عامل متصل‌شونده به CCCTC همچنین در سایر خوشه‌های نشانه‌گذاری شناسایی شدند، جایی که مکانیسم مشابه ممکن است بیان نشانه‌گذاری شده را تنظیم کند.

a Non-coding RNA model for *Igf2r* clusterb Insulator model for *Igf2* cluster

شکل ۴-۵: مکانیسم‌های مولکولی که برای بیان خاص والدین در خوشه‌های ژن نشانه‌گذاری شده اساسی هستند. a در خوشه گیرنده فاکتور رشد شبه انسولین نوع ۲، عنصر کنترل نشانه‌گذاری حامل نشانه‌گذاری متیلاسیون DNA با پروموتور RNA غیررمزکننده *Airn* (Air ncRNA) همپوشانی دارد. بیان در جفت جایی که *Mas1* و *Slc22a1* بیان نمی‌شوند (لوزی‌ها)، نشان داده می‌شود. در کروموزوم مادری (Mat)، پروموتور *Airn* متیله و خاموش می‌شود (دایره اسلاش‌دار)، درحالی‌که گیرنده فاکتور رشد شبه انسولین نوع ۲، *Slc22a2* و *Slc22a3* بیان می‌شوند (فلش). روی کروموزوم پدری (Pat) فاقد نشانه‌گذاری متیلاسیون گامتی، *Airn* بیان می‌شود و گیرنده فاکتور رشد شبه انسولین نوع ۲، *Slc22a2* و *Slc22a3* را در سیس خاموش می‌کند. b ژن‌های خوشه فاکتور رشد شبه انسولین ۲ توسط همان تشدیدکننده‌های (E) دور ژن RNA غیررمزکننده H19 (H19-NC) تنظیم می‌شوند. روی کروموزوم مادری، عنصر کنترل نشانه‌گذاری غیرمتیله می‌شود و به پروتئین‌های عامل متصل‌شونده به CCCTC اجازه می‌دهد تا متصل شوند و تشکیل عایقی را دهند که برهم‌کنش تشدیدکننده‌ها با پروموتورهای فاکتور رشد شبه انسولین ۲ و *Ins2* را مسدود می‌کند، درحالی‌که آن‌ها می‌توانند برهم‌کنش داشته باشند و H19 را فعال کنند. بر روی کروموزوم پدری، عنصر کنترل نشانه‌گذاری دارای نشانه‌گذاری متیلاسیون گامتی است که از اتصال عامل متصل‌شونده به CCCTC و در نتیجه تشکیل یک عایق جلوگیری می‌کند. تشدیدکننده‌ها اکنون ترجیحاً با پروموتورهای فاکتور رشد شبه انسولین ۲ و *Ins2* برهم‌کنش دارند و آن‌ها را فعال می‌کنند، درحالی‌که H19 بیان نمی‌شود (از بارلو و بارتولومی، ۲۰۱۴).

۵-۲-۳- چرخه حیات نشانه گذاری ژنومی

همان طور که در بالا توضیح داده شد، اساساً همه خوشه های ژنی نشانه گذاری شده دارای مناطق متیله افتراقی^۱ و همچنین مناطقی هستند که با توجه به H3K27me3 روی کروموزوم های مادری و پدری، تفاوت دارند. با این حال، همه آنها لزوماً نشانه گذاری های گامتی یا اولیه نیست که کروموزوم های والدین را علامت گذاری کنند، اینها معمولاً در عنصر کنترل نشانه گذاری قرار دارند. از آنجایی که متیلاسیون DNA در ارتباط با سرکوب است، مناطق متیله افتراقی همچنین می توانند به سادگی با آلل های خاموش شده در یک خوشه منطبق شوند، همان طور که سایر علائم سرکوب کننده مانند H3K27me3 می توانند منطبق باشند. برای شناسایی نشانه گذاری اولیه، خواه متیلاسیون افتراقی DNA باشد یا تغییر کروماتین، مهم است که مشخص شود چه زمانی علامت نشانه گذاری طی تکوین ایجاد می شود. اگر در طول گامت زایی تشکیل شود و در طول تکوین حفظ شود، احتمالاً علامت نشانه گذاری اولیه است که حافظه منشأ والد را تداعی می کند. از سوی دیگر، اگر علامت پس از لقاح ایجاد شود، زمانی که دو ژنوم والدین در یک هسته قرار دارند، ممکن است پیامد حالت خاموش شده ژن های نشانه گذاری شده در نظر گرفته شود.

از آنجایی که در هر نسل باید نشانه گذاری ها دوباره تنظیم شوند، آنها تحت یک چرخه حیات پاک کردن و ایجاد مجدد در لاین زایا قرار می گیرند. این امر در سلول های زایای اولیه ای رخ می دهد که در آن متیلاسیون DNA در کل ژنوم پاک می شود و سپس دوباره ایجاد می شود؛ مناطق متیله افتراقی که بر اساس جنسیت فرد متیله می شوند (۵-۸۵). مناطق متیله افتراقی بسیار بیشتری وجود دارد که روی آلل مادری نسبت به الل پدری متیله می شوند (۲۲ تا ۲۵ منطقه متیله افتراقی به خوبی مطالعه شده اند) و زمان متیلاسیون بین نرها و ماده ها متفاوت است. نشانه گذاری های متیلاسیون مادری در طول بلوغ اووسیت در پروفاز میوزی ایجاد می شود که پس از تولد اتفاق می افتد. نشانه گذاری های متیلاسیون پدری در بیضه های در حال تکوین جنین در پروسپرماتوگونی مدت ها قبل از ورود سلول های زایا به میوز ایجاد می شود. علی رغم این تفاوت در زمان بندی، به دست آوردن نشانه گذاری های متیلاسیون گامتی به DNA متیل ترانسفراز 3A^۲ از آغاز^۳ بستگی دارد (DNA متیل ترانسفراز 3A، فصل اول کتاب را ببینید). در اووسیت ها، DNA متیل ترانسفراز 3A توسط DNA متیل ترانسفراز 3L غیرکاتالیزوری حمایت می شود که متیلاسیون DNA را به سمت مناطق فعال رونویسی هدایت می کند که در آن غنی از H3K36me3 اما فاقد H3K4me2/3 است (استوارت و همکاران، ۲۰۱۶).

^۱. Differentially methylated regions (DMRs)

^۲. DNA methyltransferase 3A (Dnmt3A)

^۳. *De novo*

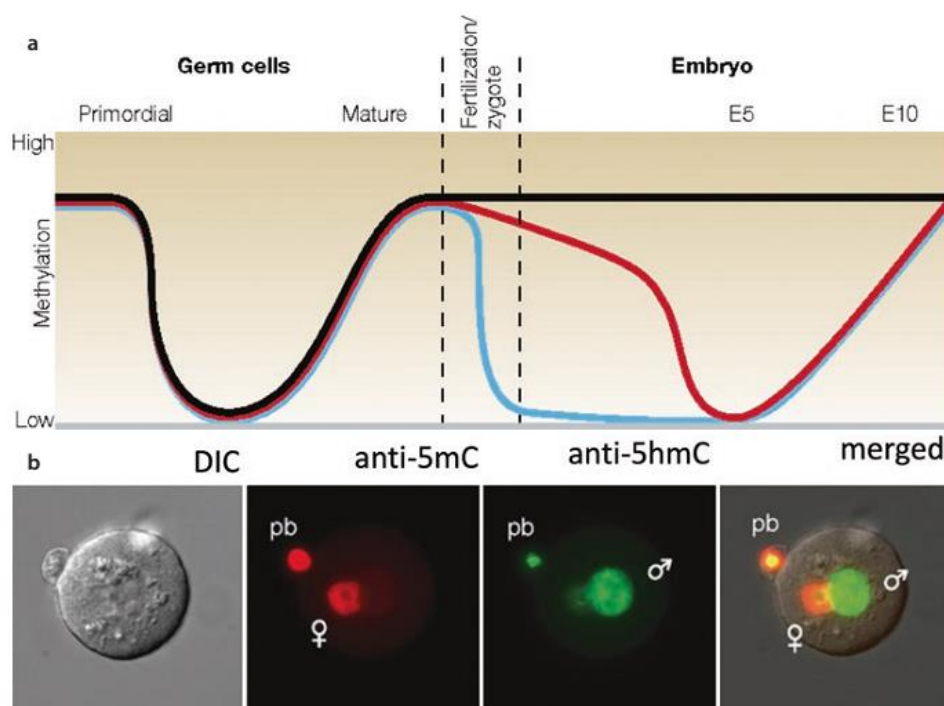
در لاین زایای نر، متیلاسیون DNA از آغاز به RNAهای برهم کنشی با Piwi مرتبط می شود که آن را به عناصر تکراری و قابل انتقال هدایت می کند (فصل ششم کتاب را ببینید). این مکانیسم هدف گیری شامل نشانه گذاری گامتی پدری در خوشه *Rasgrfl* است که حاوی یک رتروترانسپوزون است. علاوه بر DNA متیل ترانسفراز L/3A، DNA متیل ترانسفراز 3B برای متیلاسیون در *Rasgrfl* DMR مورد نیاز است اما هیچ نقشی برای متیلوم مادر ندارد. در اسپرم، متیلاسیون DNA به طور یکدست تر در هر دو ناحیه ژنی و بین ژنی توزیع می شود. دلیل اینکه DNA متیل ترانسفراز L/3A به نظر می رسد نسبتاً به طور غیراختصاصی در اسپرم عمل می کند اما دقیقاً ژن های رونویسی شده در اووسیت ها را هدف قرار می دهد، در حال حاضر مشخص نیست.

هنگامی که نشانه گذاری های گامتی ایجاد می شوند، آن ها توسط DNA متیل ترانسفراز ۱ که محل های CpG همی متیله شده را مستقیماً در چنگال تکثیر متیله می کند، طی تقسیمات سلولی پخش می شوند (فصل اول کتاب را ببینید). با این حال، مکان های نشانه گذاری شده توسط دومین رویداد برنامه ریزی مجدد در سطح ژنوم بلافاصله پس از لقاح به چالش کشیده می شود که شامل دمتیلاسیون در طول تکوین قبل از لانه گزینی و متیلاسیون از نو در جنین ها پس از لانه گزینی است (شکل 5-5a). فرض شده است که این موج برنامه ریزی مجدد امکان تنظیم مجدد ژنوم زیگوتی به حالت تمام توان را فراهم می کند. ژنوم های والدینی که در زیگوت مشارکت می کنند از گامت های بسیار تمایز یافته مشتق شده اند و بنابراین، علامت گذاری های اپی ژنتیکی را حمل می کنند که باید حذف شوند تا سلول های پرتوان و متعاقباً همه انواع سلولی جاندار تولید شود (فصل هفتم کتاب را نیز ببینید).

در حالی که ژنوم پدری حتی قبل از تقسیم اول دچار ازدست دادن سریع متیلاسیون DNA می شود، ژنوم مادری در طول تکوین قبل از لانه گزینی به آرامی دمتیله می شود (شکل 5-5a). این سینتیک ها یک دمتیلاسیون فعال ژنوم پدری را نشان می دهد، در حالی که ژنوم مادری احتمالاً متیلاسیون DNA را به صورت غیرفعال به شیوه وابسته به تکثیر DNA از دست می دهد (فصل اول کتاب را ببینید). دمتیلاسیون فعال با واسطه جابه جایی ده- یازده متیل سیتوزین ترانسفرازها که می تواند ۵- متیل سیتوزین را به ۵- هیدروکسی متیل سیتوزین و بیشتر به ۵- فرمیل ۵- کربوکسیل اکسید کند، پیشنهاد شد (به فصل اول کتاب مراجعه کنید). در واقع، بیان جابه جایی ۱۱-۱۰ نوع ۳ با ازدست دادن ۵- متیل سیتوزین و تجمع ۵- هیدروکسی متیل سیتوزین در پیش هسته نر همزمان است (شکل 5-5b) که این امر منجر به دیدگاهی عمیقاً معتبر می شود که دمتیلاسیون از طریق اکسیداسیون توسط آنزیم های جابه جایی ۱۱-۱۰ رخ می دهد. با این حال، مطالعات اخیر تردیدهایی در مورد این مفهوم ایجاد کرده است؛ زیرا دمتیلاسیون قبل از تجمع ۵- هیدروکسی متیل سیتوزین،

¹. Ten-eleven translocation (TET)

کامل به نظر می‌رسید و همچنان در موش ناکاوت جابه‌جایی ۱۱-۱۰ نوع ۳ ویژه تخمک رخ می‌داد (سن میگوئل و بارتولومی، ۲۰۱۸).



شکل ۵-۵- برنامه‌ریزی مجدد متیلاسیون DNA در سلول‌های زایای اولیه و جنین. a این شکل نشان می‌دهد که چگونه میزان متیلاسیون در مناطق متیله افتراقی غیرمتیله (خاکستری) و متیله (سیاه) ژن‌های نشانه‌گذاری شده و در توالی‌های غیرنشانه‌گذاری شده (قرمز: ژنوم مادر، آبی: ژنوم پدر) در طول رشد تغییر می‌کند. محور x نشان‌دهنده زمان بندی تکوین و محور y نشان‌دهنده میزان متیلاسیون به مقیاس نیستند. در سلول‌های زایا، نشانه‌گذاری‌های متیلاسیون پاک می‌شوند و بر اساس جنسیت فرد دوباره تنظیم می‌شود. در زیگوت و جنین اولیه، دمتیلاسیون فراگیر وجود دارد که با این حال، بر روی نشانه‌گذاری‌های گامتی که حفظ می‌شوند، تأثیر نمی‌گذارند. ژنوم پدری، متیلاسیون DNA را در زیگوت خیلی سریع حتی قبل از اولین تقسیم از دست می‌دهد. در مقابل، ژنوم مادری به تدریج متیلاسیون DNA را احتمالاً از طریق دمتیلاسیون غیرفعال توسط همانندسازی DNA، از دست می‌دهد (از ریک و والتر، ۲۰۰۱). b از دست دادن سریع ۵-متیل سیتوزین (5mC) در پیش هسته نر به‌طور همزمان با اکسیداسیون رخ می‌دهد و منجر به ایجاد ۵-هیدروکسی متیل سیتوزین (5hmC) می‌شود. همان‌طور که با رنگ‌آمیزی آنتی‌بادی مشخص شد، پیش‌هسته ماده و جسم قطبی (pb) هنوز سطوح بالایی از ۵-متیل سیتوزین را نشان می‌دهند؛ زمانی که پیش‌هسته نر به‌طور کامل این آنتی‌ژن را از دست داده اما 5hmC را به‌دست آورده است (از اقبال و همکاران، ۲۰۱۱).

یکی از جالب ترین پرسش ها این است که وقتی بقیه ژنوم متیلاسیون مجدد DNA را به دست می آورند، چگونه نشانه گذاری های گامتی از دمتیلاسیون در جنین می گریزند و مناطق متیله افتراقی غیرمتیله از متیله شدن محافظت می شوند. این امر احتمالاً توسط عوامل ترانس اکتینگ حاصل می شود که به نواحی ویژه تنظیمی سیس متصل می شوند تا از مناطق متیله افتراقی گامتی حمایت کنند. یکی از این پروتئین ها DPPA3 است که مسئول حفظ متیلاسیون DNA در برخی از مناطق متیله افتراقی گامتی است. پروتئین دیگری که از نشانه گذاری های متیلاسیون محافظت می کند، ZFP57 است، یک پروتئین انگشت روی با اولویت اتصال به TGCCGC که در بیشتر مناطق متیله افتراقی گامتی درگیر در نشانه گذاری وجود دارد. ZFP57 فقط به مکان های متیله متصل می شود و با پروتئین KAP1 برهم کنش می کند که آنزیم های مختلف تغییردهنده هیستون سرکوب کننده و مهمتر از آن DNA متیل ترانسفراز که متیلاسیون را در مناطق متیله افتراقی حفظ می کند، به کار می گیرد. در جنین های جهش یافته *Zfp57* زیگوتی مادری، از دست دادن متیلاسیون DNA در بسیاری از مناطق متیله افتراقی گامتی همراه با تغییرات گسترده در بیان ژن های نشانه گذاری شده وجود دارد، بنابراین اهمیت آن در محافظت از مناطق متیله افتراقی در طول برنامه ریزی مجدد را نشان می دهد (سن میگوئل و بارتولوی، ۲۰۱۸).

۵-۳- نشانه گذاری ژنومی و بیماری انسان

ژن های نشانه گذاری شده در بافت های مختلف بیان می شوند و عملکرد آن ها متعدد است. مطابق با بیان بسیاری از ژن های نشانه گذاری شده در جنین و جفت، موتاسیون ها اغلب بر رشد و تکوین جنین تأثیر می گذارند. سایر ژن های نشانه گذاری شده بیان ترجیحی را در مغز نشان می دهند و موتاسیون ها در موش می تواند منجر به تکوین فنوتیپ های رفتاری شود. با توجه به اینکه تنها یکی از آلل های والدینی ژن های نشانه گذاری شده فعال است، جای تعجب نیست که موتاسیون ها در خوشه های ژن نشانه گذاری شده اغلب با بیماری های انسانی مرتبط است (به فصل هشتم کتاب مراجعه کنید). در حالی که برخی از این بیماری ها به وضوح با خوشه نشانه گذاری خاص مرتبط هستند، برخی دیگر اختلالات نشانه گذاری در چندین مکان در سراسر ژنوم را نشان می دهند. منتخبی از اختلالات نشانه گذاری در تابلو ۵-۱ نشان داده شده است (مونک و همکاران، ۲۰۱۹):

همان طور که در تابلو ۵-۱ مشخص شده است بسیاری از اختلالات نشانه گذاری روی ناحیه ژنومی یکسان، تأثیر می گذارد اما بسته به اینکه کدام یک از آلل های والدین تحت تأثیر قرار گیرد، منجر به ویژگی های بالینی متمایز می شود. به عنوان مثال، در برخی از بیماران مبتلا به سندرم سیلور-راسل، نسخه پدری خوشه نشانه گذاری *Igf2/H19* از بین رفته یا تحت تأثیر قرار گرفته است، در حالی که در سندرم بکویت-ویدمن، در نسخه مادری این اتفاق رخ می دهد. به همین ترتیب، در سندرم تمپل، آلل

پدری خوشه *Meg3-Dlk1* تحت تأثیر قرار می‌گیرد، درحالی‌که آلل مادری در بیشتر بیماران مبتلا به سندرم کاکامی اوگاتا از دست می‌رود.

برای نشان دادن مبنای مولکولی اختلالات نشانه‌گذاری، ما بر روی سندرم پرادر-ویلی^۱ و سندرم آنجلمن^۲ تمرکز می‌کنیم که هر دو بر خوشه ژن نشانه‌گذاری شده *Snrpn/Ube3A* تأثیر می‌گذارند. در بین سایر ویژگی‌های بالینی، سندرم پرادر-ویلی با وزن کمتر هنگام تولد، هیپوتونیا نوزادی، محدودیت رشد پس از تولد و به دنبال آن هیپرفازیا و چاقی، کوتاهی قد، هیپوگنادیسم و ناتوانی ذهنی خفیف مشخص می‌شود. در مقابل، بیماران سندرم آنجلمن می‌توانند وزن تولد بالاتر از میانگین (بسته به ضایعه دقیق)، تأخیر شدید در تکوین پس از زایمان، آتاکسی، اسکولیوزیس، میکروسفالی، تشنج، ناتوانی شدید ذهنی، حداقل مهارت‌های کلامی و احساس خوشحالی با حملات مکرر خنده داشته باشند.

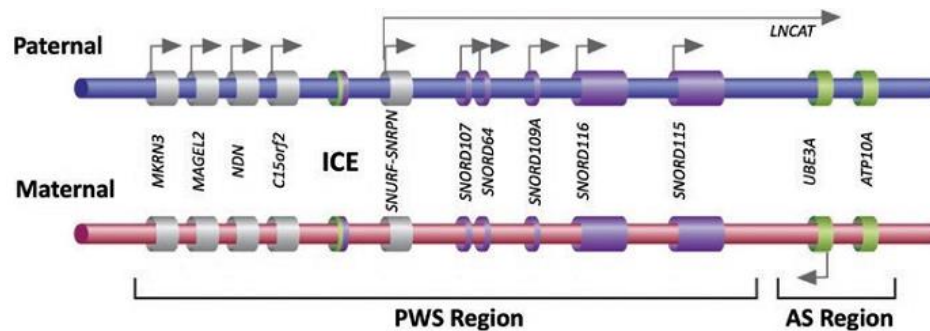
بیشتر بیماران مبتلا به هر اختلال حذف حدود ۵-۶ مگا جفت باز در ۱۵q11 را حمل می‌کنند. درحالی‌که حذف از طریق پدر در بیماران سندرم پرادر-ویلی به ارث می‌رسد، در کودکان سندرم آنجلمن از مادر به ارث رسیده است. این تفاوت، ویژگی‌های بالینی متمایز را بین بیماران سندرم پرادر-ویلی و سندرم آنجلمن توضیح می‌دهد؛ زیرا تنها آلل‌های مادری یا پدری خوشه *Snrpn/Ube3A* به ترتیب بیان می‌شوند. به‌غیراز حذف، سایر ضایعات ژنتیکی که منجر به موتاسیون‌های ازدست‌دادن عملکرد ژن‌ها در خوشه *Snrpn/Ube3A* می‌شوند، می‌توانند باعث ایجاد سندرم شوند (شکل ۵-۶). برای سندرم آنجلمن، حدود ۱۰ تا ۱۵٪ موارد یک موتاسیون در ژن *UBE3A* بیان‌شده مادری را حمل می‌کند که *UBE3A* را به‌عنوان ژن احتمالاً مسئول سندرم آنجلمن شناسایی می‌کند. هنوز کاملاً مشخص نیست که کدام یک از ژن‌ها در ناحیه خوشه نشانه‌گذاری سندرم پرادر-ویلی مسئول سندرم پرادر-ویلی است، اگرچه شواهد اخیر نشان می‌دهد که جایگاه *SNORD116* مجموعه‌ای از RNAهای کوچک هسته‌ای را به‌رمز در می‌آورد.

¹. Prader-Willi Syndrome (PWS)

². Angelman Syndrome (AS)

تابلو ۵-۱- اختلالات انسانی انتخاب شده مربوط به نقص‌ها در خوشه‌های نشانه‌گذاری.

Imprinting disorder	Chromosome	Affected imprinting cluster
Silver-Russel Syndrome	11p15.5 7p11.2 Others	<i>Kcnq1, Igf2/H19</i> <i>Grb10</i> ...
Beckwith-Wiedemann Syndrome	11p15.5	<i>Kcnq1, Igf2/H19</i>
Temple Syndrome	14q32	<i>Dlk1-Dlo3</i>
Kagami-Ogata Syndrome	14q32	<i>Dlk1-Dlo3</i>
Prader-Willi Syndrome	15q11-q13	<i>Snrpn/Ube3A</i>
Angelman Syndrome	15q11-q13	<i>Snrpn/Ube3A</i>



شکل ۵-۶: خوشه ژن نشانه‌گذاری شده *Snrpn/Ube3A* مرتبط با سندرم پرادر ویلی (PWS) و سندرم آنجلمن (AS). عنصر کنترل نشانه‌گذاری، بیان نشانه‌گذاری شده ژن‌ها در خوشه را کنترل می‌کند. ژن *SNURF-SNRPN* نه تنها دو محصول پروتئینی، *Snurf* و *Snrpn* را رمزگذاری می‌کند، بلکه یک رونوشت آنتی‌سنس طولی غیررمزکننده (*LNCAT*) بیان شده توسط پدر را رمز می‌کند که با پروموتور ژن *UBE3A* بیان شده مادری مسئول سندرم آنجلمن همپوشانی دارد (از زوقبی و بیدت، ۲۰۱۶).

جدا از علل ژنتیکی این سندرم‌ها، مواردی نیز وجود دارد که خوشه *Snrpn/Ube3A* دست نخورده است اما ژن‌های آن از نظر اپی‌ژنتیکی، نادرست تنظیم می‌شوند. به عنوان مثال، اگر هر دو هومولوگ کروموزوم ۱۵ از یک والد منشأ گرفته باشند، وضعیتی به نام دی‌زومی تک‌والدینی^۱ رخ می‌دهد. دی‌زومی تک‌والدینی مادری مسئول سندرم پرادر-ویلی است، درحالی‌که سندرم آنجلمن توسط دی‌زومی تک‌والدینی پدری ایجاد می‌شود. منشأ دی‌زومی تک‌والدینی‌ها در عدم تفکیک طی میوز ماده است که پس از لقاح منجر به زیگوت‌هایی می‌شود که یا دارای فقط یک کروموزوم پدری

^۱. Uniparental disomy (UPD)

(مونوسومی) یا دو کروموزوم ۱۵ مادری و یک پدری (تریزومی) در مورد سندرم پرادر-ویلی و سندرم آنجلمن هستند. این زیگوت‌های نابه‌جا می‌توانند به‌طور طبیعی تکوین پیدا کنند اگر کروموزوم ۱۵ خودبه‌خود شل یا مضاعف شود. ازدست‌دادن نسخه پدری از زیگوت‌های تریزومی منجر به دی‌زومی تک‌والدینی مادری می‌شود، درحالی‌که مضاعف‌شدن کروموزوم تکی پدری در زیگوت‌های تک‌زومیک به دی‌زومی تک‌والدینی پدری منجر می‌شود. همان‌طور که در افراد مبتلا به دی‌زومی تک‌والدینی، دو همولوگ از یک والد ناشی می‌شوند، آن‌ها فاقد بیان ژن‌های نشانه‌گذاری‌شده خاص برای والد دیگر هستند که منجر به اختلالات نشانه‌گذاری می‌شود.

نکته مهم این است که سندرم پرادر-ویلی و سندرم آنجلمن همچنین می‌توانند از نقص‌های نشانه‌گذاری، ناشی شوند. بیان نشانه‌گذاری‌شده در خوشه *Snrpn/Ube3A* توسط یک بالادست عنصر کنترل نشانه‌گذاری ژن *SNURF-SNRPN* کنترل می‌شود. اگر یک موتاسیون، عملکرد عنصر کنترل نشانه‌گذاری را تحت‌تأثیر قرار دهد، ژن‌های موجود در خوشه، بیان خاص منشأ والد را از دست می‌دهند. همین امر می‌تواند ناشی از عدم برنامه‌ریزی مجدد نشانه‌گذاری گامتی در سلول‌های زایای اولیه باشد. به‌عنوان مثال، اگر علامت متیلاسیون روی عنصر کنترل نشانه‌گذاری مادری در پیش اسپرم‌سازی^۱ پاک نشود، یک نر آن را با علامت گامتی مادری به جای پدری منتقل می‌کند. این امر منجر به تشکیل یک زیگوت با دو خوشه *Snrpn/Ube3A* مادری می‌شود که باعث سندرم پرادر-ویلی می‌شود. اگرچه چنین نقص‌های نشانه‌گذاری‌ای تنها مسئول اقلیتی از موارد سندرم پرادر-ویلی و سندرم آنجلمن هستند، ولی آن‌ها بینش‌های مهمی را در مورد تنظیم مجدد نشانه‌گذاری‌ها و تنظیم بیان نشانه‌گذاری‌شده در خوشه *Snrpn/Ube3A* ارائه کردند.

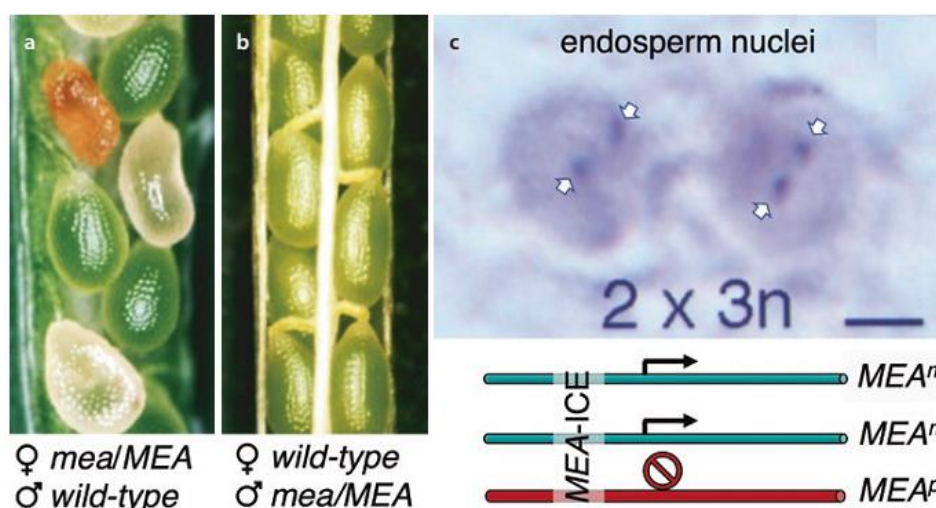
۵-۴- نشانه‌گذاری ژنومی در گیاهان گلدار

اگرچه نشانه‌گذاری ژن‌های منفرد در ابتدا در گیاهان کشف شد و بیان وابسته به منشأ والد چند ژن در آندوسپرم ذرت مستند شد، ولی مکانیسم‌های اساسی نشانه‌گذاری ژنومی تا زمان کشف ژن‌های نشانه‌گذاری‌شده در گیاه مدل آراییدوپسیس تالینا در اواخر دهه ۱۹۹۰ به‌خوبی مطالعه نشده بود. مطالعات نشانه‌گذاری در گیاه با کشف *MEDEA 9 (MEA)* دوباره قوت گرفت (گروس نیکلاس و همکاران، ۱۹۹۸)، یک ژن نشانه‌گذاری‌شده بیان‌شده توسط مادر که رمزکننده هومولوگ تشدیدکننده زست (هیستون‌متیل‌ترانسفراز) در کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ حفاظت‌شده مگس سرکه ملانوگاستر است (فصل سوم کتاب را ببینید). جهش یافته *mea* در حین غربال جهش‌یافته‌های اثر مادری با ژنوتیپ گامت‌های ماده تعیین‌کننده فنوتیپ بذرهای در حال تکوین، شناسایی شد. از آنجایی

^۱. Prospermatogonia

که گامت‌های گیاهان توسط جانداران چندسلولی هاپلوئید (گامتوفیت‌ها) تولید می‌شوند که از طریق تقسیم‌های میتوزی پس از میوز تشکیل می‌شوند، چنین جهش‌یافته‌هایی یک رفتار ژنتیکی ویژه را نشان می‌دهد. در یک گیاه *mea/MEA* هتروزیگوت، نیمی از محصولات میوزی حامل آلل *mea* جهش‌یافته و نیمی حامل آلل *MEA* نوع وحشی است. همچنین به همان نسبت نیمی از گامتوفیت‌ها و گامت‌های موجود در آن‌ها (تخمک و سلول مرکزی در گامتوفیت ماده؛ دو سلول اسپرم در گرده، گامتوفیت نر) حامل آلل جهش‌یافته خواهند بود؛ بنابراین، اگر یک گیاه ماده هتروزیگوت *mea/MEA* با یک نر نوع وحشی تلاقی داده شود، نیمی از بذرها سقط می‌شوند، درحالی‌که در تلاقی متقابل، همهٔ بذرها به‌طور طبیعی تکوین پیدا می‌کنند (شکل ۵-۷).

البته، مشابه تجمع رنگ هسته که توسط آلل *R* در ذرت تنظیم می‌شود، سقط بذر اثر مادری مشاهده‌شده در جهش‌یافته‌های *mea* می‌تواند ناشی از (۱) اثر دُز در آندوسپرم (۲) از دست‌دادن محصول ذخیره‌شده در سیتوپلاسم یا (۳) نشانه‌گذاری ژنومی باشد. از آنجایی که آرابیدوپسیس ابزارهای پیچیدهٔ ژنتیکی موجود در ذرت را ارائه نمی‌دهد، اثر دُز با تولید گیاهان تتراپلوئید که آندوسپرم با نسبت‌های آللی *Mea:MEA* در محدودهٔ ۶:۰ تا ۶:۶ تولید می‌کند، نادیده گرفته می‌شود. تمایز دو احتمال باقی مانده نیاز به شبیه‌سازی *MEA* و بررسی بیان آللی آن با استفاده از پلی مورفیسم‌های خاص والدین دارد. این امر نشان داد که تنها رونوشت‌های مادری در بذرها در حال تکوین را می‌توان تشخیص داد. با این حال، *MEA* قبلاً در گامت‌های ماده بیان شد، به‌طوری‌که این رونوشت‌های مادری می‌توانستند یا منحصراً قبل از لقاح تولیدشده و در سلول تخم ذخیره شوند یا علاوه‌براین، همچنین پس از لقاح از آلل مادری مشتق شوند. هیبریداسیون در محل RNA برای تشخیص رونوشت‌های نوپا در هسته‌های آندوسپرم تریپلوئید نشان داد که تنها دو تا از سه آلل *MEA* رونویسی شدند. رونوشت‌های نوپا به‌طور موقت در محل کروموزومی رونویسی خود که تشکیل نقاط هسته‌ای با غلظت رونوشت زیاد را می‌دهد، باقی می‌مانند (شکل ۵-۷)؛ بنابراین، درحالی‌که *MEA* پیش از این در گامت‌های ماده بیان می‌شود، آن با نشانه‌گذاری ژنومی نیز تنظیم می‌شود که منجر به رونویسی تنها آلل‌های *MEA* مادری در آندوسپرم می‌شود (ویل-کالزادا و همکاران، ۱۹۹۹). کشف نشانه‌گذاری ژنومی در آرابیدوپسیس مطالعات بسیاری را در سطح ژنوم و همچنین مکانیسم‌های مولکولی اساسی بیان خاص والدین در مکان‌های خاص در گیاهان تحریک کرد.



شکل ۵-۷: نشانه گذاری ژنومی، مسئول سقط بذر اثر مادری مشاهده شده در جهش یافته *mea* است. a و b سیلیکوهاي باز شده با بذرهای در حال تکوین حاصل از تلاقی متقابل را نشان می دهد. اگر آلل جهش یافته *mea* از مادر به ارث رسیده باشد، بذر ها سقط می شوند (بذر های قرمز و قهوه ای در a) ولی اگر از پدر به ارث رسیده باشد، تأثیری بر تکوین بذر ندارد. b. (از گروسنیکلاوس و همکاران، ۱۹۹۸). c. تشخیص رونوشت های نوپا در جایگاه *MEA* (فلش ها) نشان می دهد که تنها دو آلل از سه آلل موجود در آندوسپرم به طور فعال رونویسی می شوند، یعنی دو نسخه مادری همان طور که به صورت شماتیک نشان داده شده است (از ویل-کالزادا و همکاران، ۱۹۹۹).

۵-۴-۱- نشانه گذاری ژنومی عمدتاً در آندوسپرم اتفاق می افتد اما در جنین نیز وجود دارد

از آنجایی که تمام ژن های نشانه گذاری شده که ابتدا در ذرت مطالعه شدند در آندوسپرم بیان می شدند (مسینگ و گروسنیکلاوس، ۱۹۹۹) و DNA ژنوم مادری در این بافت هیپومتیله شده بود، بنابراین اغلب نشانه گذاری به عنوان رخداد اختصاصی آندوسپرم در نظر گرفته می شود. علیرغم اینکه ژن های نشانه گذاری شده در جنین گیاه نیز شناسایی شده اند، بیشتر مطالعات تا به امروز بر روی آندوسپرم متمرکز شده اند. در طول سال های گذشته، بسیاری از مطالعات گسترده ژنوم، ژن های نشانه گذاری شده کاندیدا را در چندین گونه از جمله آرابیدوپسیس، ذرت و برنج شناسایی کردند. این مطالعات بر تعیین توالی RNA جدا شده از بافت آندوسپرم تشریح شده یا هسته های آندوسپرم دسته بندی شده و جستجوی بعدی برای رونوشت های با بیان سوگیری شده از طرف والدین بر پلی مورفیسم های نوکلئوتیدی بین والدین متکی بودند.

تمام مطالعات در سطوح حالت پایدار رونوشت‌های mRNA بررسی شدند، بین mRNA هایی که منحصراً قبل از لقاح تولید شده و در گامت‌ها ذخیره شده‌اند و آن‌هایی که به‌طور افتراقی از ال‌های والدینی پس از لقاح رونویسی شده‌اند، تمایز قائل نمی‌شوند. اگرچه آندوسپرم چند روز پس از لقاح جدا شد، ولی نیمه‌عمر mRNA ها ناشناخته است و به‌طور بالقوه می‌توانند بسیار پایدار باشند؛ بنابراین، برای نتیجه‌گیری اینکه یک ژن توسط نشانه‌گذاری ژنومی تنظیم می‌شود، نیاز به نشان دادن رونویسی فعال آن پس از لقاح دارد. فقط در زیگوت یا سلول مرکزی لقاح‌یافته، هر دو آلل والدینی در یک هسته وجود دارد و بر اساس نشانه‌گذاری گامتی خود رونویسی می‌شوند. در صورتی که هیچ رونوشتی در گامت‌ها شناسایی نشود، چنین نتیجه گرفته می‌شود که رونویسی محصول نشانه‌گذاری گامتی است اگرچه مواردی مانند *MEA* که در گامت‌های ماده و همچنین نشانه‌گذاری شده بیان می‌شود، با این استراتژی از قلم می‌افتند. به‌عنوان راهی دیگر، رونویسی فعال را می‌توان با جست‌وجو کردن رونوشت‌های نوپا نشان داد (شکل ۵-۷). در حالی که، در گیاهان، این بررسی تاکنون فقط برای *MEA* انجام شده است، هیبریداسیون فلورسنت در محل برای شناسایی RNA ها (RNA-FISH) یک تکنیک استاندارد در پستانداران است. به‌طور خلاصه، در حالی که آزمایش‌های توالی‌یابی RNA صدها ژن کاندیدا نشانه‌گذاری شده در گونه‌های مختلف را شناسایی کرده‌اند، تنظیم توسط نشانه گذاری ژنومی تنها برای تعداد کمی از آن‌ها به‌صراحت نشان داده شده است.

علاوه‌براین، همپوشانی ژن‌های نشانه‌گذاری شده احتمالی بین مطالعات انجام شده در گسترده ژنومی در آزمایشگاه‌های مختلف بسیار کم است (وایدر و همکاران، ۲۰۱۹). هیپومتیلایسیون ژنوم مادری در آندوسپرم ممکن است منجر به تغییرات تصادفی در بیان شود (بیان بین افراد متفاوت است و تحت تأثیر محیط قرار می‌گیرد) که هم‌پوشانی ضعیف بین مطالعات را توضیح می‌دهد. این بدان معناست که بیان وابسته به منشأ والدین این ژن‌ها تصادفی بوده و نقش مهمی در تکوین بازی نمی‌کند. مطابق با این ایده، عملکرد تنها تعداد انگشت شماری از ژن‌های نشانه‌گذاری شده شناخته شده است، از جمله *MEA* آرابیدوپسیس و بذر مستقل از لقاح ۱۲ که هومولوگ *Su(z)12* مگس سرکه را رمز می‌کند. *MEA* و بذر مستقل از لقاح ۲ زیرواحدهای کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲-بذر مستقل از لقاح ۲، یک نوع کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ هستند (به فصل سوم کتاب مراجعه کنید) که برای تکوین طبیعی بذر مورد نیاز است.

اگر چه بیشتر مطالعات نشانه‌گذاری در گیاهان روی آندوسپرم متمرکز شده است، ولی نشانه گذاری ژنومی در جنین نیز گزارش شده است. در آرابیدوپسیس، حدود دوازده ژن کاندیدا شناسایی شد، ده مورد از آن‌ها در گامت‌ها بیان نشدند که بیانگر بیان فعال پس از لقاح و در نتیجه نشانه‌گذاری

¹. FERTILIZATION INDEPENDENT SEED2 (FIS2)

خوب است. مطالعه اخیر در ذرت، چند دوجین ژن نشانه گذاری شده کاندیدا را شناسایی کرد. همانند پستانداران، نشانه گذاری های گامتی ژن های بیان شده در جنین های گیاهی در هر نسل باید دوباره تنظیم شود. این حکم در مورد نشانه گذاری ها در آندوسپرم که یک بافت انتهایی است که در نسل بعدی مشارکت ندارد، صادق نیست. همانند پستانداران، نشانه گذاری های اولیه باید در طول گامت زایی ایجاد شود، زمانی که ژنوم های والدین از هم جدا می شوند. هم در ذرت و هم در آرابیدوپسیس، ژن های با بیان اختصاصی آلل والدین در جنین های جوان بعداً در طول جنین زایی به صورت دو آللی بیان می شوند. در حال حاضر مشخص نشده است که این موضوع پاک کردن نشانه گذاری گامتی را معرفی می کند یا تنظیم رونویسی جایگزین را نشان می دهد.

۵-۴-۲- مکانیسم های اساسی نشانه گذاری، شباهت بین پستانداران و گیاهان را نشان

می دهد

تشریح تنظیم نشانه گذاری در جایگاه های خاص و همچنین مطالعات پروفایل گسترده ژنومی متیلاسیون DNA و تغییرات هیستون، هر دو مکانیسم های اساسی نشانه گذاری ژنومی در گیاهان را روشن کرده اند. مجدداً، مطالعات روی تنظیم جایگاه *MEA* راه را برای نشان دادن این موضوع هموار کرد که همانند پستانداران، متیلاسیون DNA نقش برجسته ای در نشانه گذاری ژنومی در گیاهان بازی می کند. برخلاف پستانداران که فقط CG ها متیله می شوند (به فصل اول کتاب مراجعه کنید) در گیاهان، متیلاسیون DNA می تواند در موقعیت CG، CHG و CHH با (H≠G) رخ دهد. در حالی که دمین های بازآرایی شده متیل ترانسفراز^۱، متیل ترانسفراز اصلی از آغاز برای همه سیتوزین ها است، DNA متیل ترانسفرازهای مجزا، مسئول حفظ متیلاسیون در موقعیت های مختلف هستند: هومولوگ DNA متیل ترانسفراز 1 (MET1) برای CG، کرومومتیل ترانسفراز^۲ برای CHG و دمین های بازآرایی شده متیل ترانسفراز ۲ همراه با کرومومتیل ترانسفراز ۲ برای CHH.

موتاسیون های مؤثر بر *MET1* دخالت متیلاسیون DNA در خاموش کردن آلل *MEA* پدری را نشان می دهد. این امر با شناسایی (DME) DEMETER^۳، یک DNA گلیکوزیلاز که می تواند سیتوزین های متیله را از طریق ترمیم برش باز برد، تأیید شد (چوی و همکاران، ۲۰۰۲). DME ترجیحاً در سلول مرکزی بیان می شود، جایی که منجر به دمتیلاسیون می شود و سپس منتهی به هیپومتیلاسیون کروموزوم های مادری در آندوسپرم پس از لقاح می شود. در جهش یافته *dme* آلل *MEA* مادری بیان نمی شود، این امر نشان می دهد که برای تنظیم حالت فعال آن به دمتیلاسیون

¹. DOMAINS. REARRANGED. METHYLTRANSFERASE2. (DRM2)

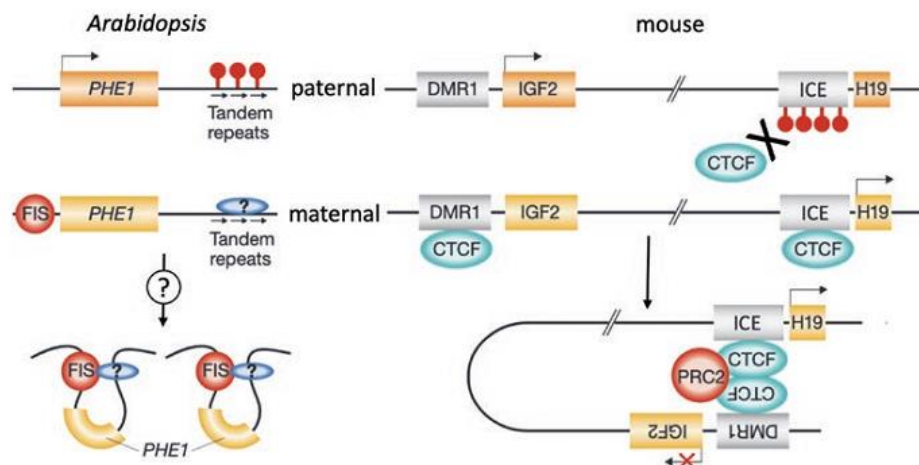
². CHROMOMETHYLTRANSFERASE3. (CMT3)

³. De. Methylation. Effector. in. Meiotic. Events. of. Reprogramming

نیاز است. تنظیم نشانه گذاری توسط متیل ترانسفراز MET1 و DME که این علامت اپی ژنتیک را حذف می کند، برای چندین مکان دیگر نیز نشان داده شده است. علاوه بر متیلاسیون DNA، H3K27me3 به واسطه کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ نشان داده شد که بسیاری از ژن های نشانه گذاری شده را تنظیم می کند. این امر اولین بار برای *PHERES1* (*PHE1*)، هدف مستقیم کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲- بذر مستقل لقاح^۱ نشان داده شد. آلل پدری *PHE1* به میزان بسیار بالاتری نسبت به آلل مادری بیان می شود که به طور خاص توسط کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲- بذر مستقل لقاح در طول تکوین بذر سرکوب می شود (کوهر و همکاران، ۲۰۰۵). سرکوب آلل *PHE1* مادری نیز به مناطق متیله افتراقی در تکرارهای پشت سرهم در پایین دست ژن بستگی دارد. مطرح شده است که منطقه متیله افتراقی غیرمتیله تشکیل حلقه کروماتین سرکوبگر را از طریق تعامل با کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲- بذر مستقل لقاح در پروموتور *PHE1* را امکان پذیر می کند (شکل ۵-۸). منطقه متیله افتراقی در شکل متیله خود، از اتصال عوامل هنوز ناشناخته دخیل در تشکیل حلقه جلوگیری می کند و در نتیجه یک آلل پدری فعال ایجاد می شود. در حالی که حلقه های درگیر در نشانه گذاری منتظر تأیید تجربی در گیاهان هستند، وجود چنین حلقه هایی در موش ها نشان داده شده است. همان طور که قبلاً بحث شد، در خوشه نشانه گذاری شده *Igf2/H19*، عامل متصل شونده به CCCTC به عنصر کنترل نشانه گذاری غیرمتیله متصل می شود و همراه با کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲، یک حلقه کروماتین را تشکیل می دهد که فاکتور رشد شبه انسولین ۲ را سرکوب می کند (شکل ۵-۸).

کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ نه تنها نقش اساسی در رشد بذر ایفا می کند، بلکه برخی از ژن های سرکوب شده توسط پدر را در جفت موش تنظیم می کند. علاوه بر این، H3K27me3 با واسطه کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ می تواند به عنوان نشانه گذاری گامتی عمل کند، اما نسبت به متیلاسیون DNA، نقش کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ نسبتاً کم است (بارلو و بارتولومی، ۲۰۱۴). با این وجود، متیلاسیون DNA و کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ در نشانه گذاری ژنومی هم در پستانداران و هم در گیاهان نقش دارند که در به کارگیری مستقل این دو مازول سرکوبگر در هر دو دودمان در تکامل بیان خاص والدینی تأکید دارد.

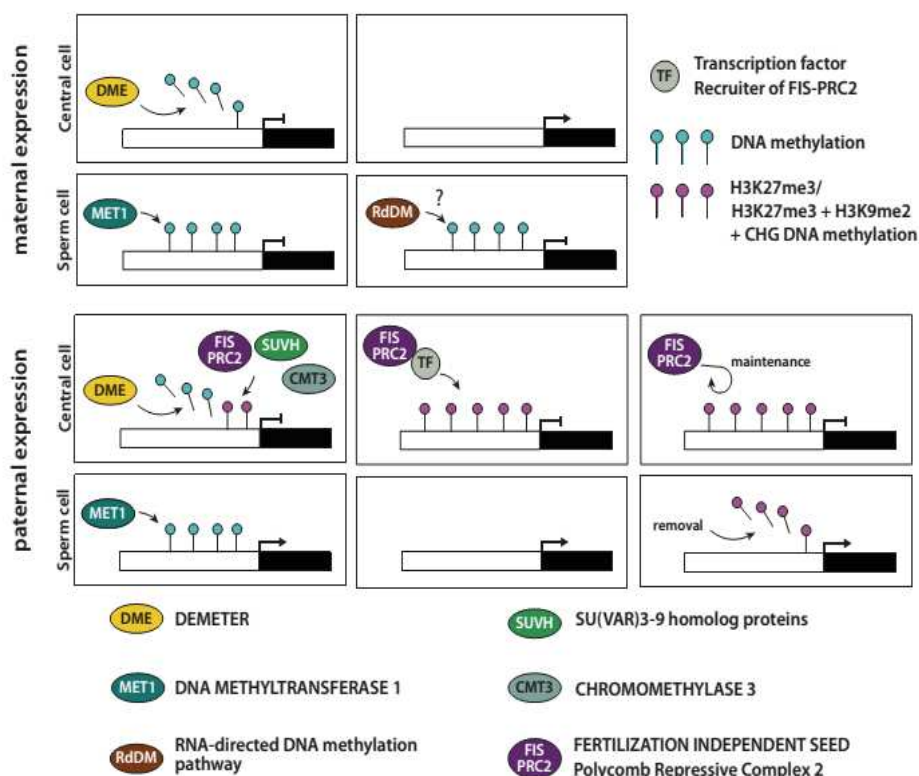
¹. Fertilization independent seed (FIS)- Polycomb repressive complex2 (PRC2)



شکل ۵-۸- حلقه‌های کروماتین به‌عنوان بخشی از مکانیسم نشانه‌گذاری. در سمت چپ، آلل فعال پدری *PHE1* دارای تکرارهای متیله پشت‌سرهم است، در حالی که در آلل مادری، مناطق متیله افتراقی غیرمتیله است، این امر پیشنهاد می‌کند که امکان تشکیل حلقه کروماتین روی دو کروموزوم مادری در آندوسپرم فراهم شود. در سمت راست، خوشهٔ *Igf2/H19* نشان داده می‌شود که برای آن تشکیل حلقه در کروموزوم مادری با وساطت عامل متصل شونده به CCCTC و کمپلکس سرکوب‌کنندهٔ پلی‌کومب ۲، نشان داده شده است (لوپین و اکی، ۲۰۰۹).

مطالعات پروفایل متیلاسیون DNA گسترده ژنومی، علائم کروماتین سرکوب‌کننده و بیان ژن در آندوسپرم نشان داده‌است که شاخص عمده برای ژن‌های گیاهی نشانه‌گذاری شدهٔ بیان‌شدهٔ مادری، متیلاسیون DNA است (باتیستا و کوهرلر، ۲۰۲۰). در بسیاری از موارد، این ژن‌ها با متیلاسیون DNA در بیشتر بافت‌ها خاموش می‌شوند و دمتیلاسیون آن‌ها توسط DME در سلول مرکزی منجر به بیان آلل‌های مادر در آندوسپرم می‌شود. در موارد دیگر، متیلاسیون از آغاز آلل پدری در اسپرم ممکن است منجر به بیان اختصاصی مادری آن‌ها شود (شکل ۵-۹). برای ژن‌های بیان‌شده توسط پدر، تغییرات هیستون با وساطت کمپلکس سرکوب‌کنندهٔ پلی‌کومب ۲ ($H3K27me3$) یا کرومومتیلاز ۳ و هومولوگ های ۳-۹ *SU(VAR)3-9* گیاهی ($H3K9me2$) نقش عمده‌ای در تنظیم بیان نشانه‌گذاری شده بازی می‌کنند. این امر می‌تواند از طریق دمتیلاسیون آلل مادری توسط DME و به‌دنبال آن با قراردادن علائم هیستون سرکوبگر در ترکیب با متیلاسیون DNA آلل پدری رخ دهد که از اتصال کمپلکس سرکوب‌کنندهٔ پلی‌کومب ۲ همان‌طور که برای *PHE1* نشان داده شده است جلوگیری می‌کند (شکل ۵-۸). از طرف دیگر، آلل مادری ممکن است به‌طور خاص با به‌کارگیری کمپلکس سرکوب‌کنندهٔ پلی‌کومب ۲ از طریق عوامل رونویسی انتخاب شده، یا با حذف علائم هیستون سرکوبگر ژن‌های به‌طور کلی خاموش‌شده، به‌طور خاص در سلول اسپرم، هدف قرار داده شود (شکل ۵-۹).

درحالی که این مکانیسم‌ها ممکن است تنظیم ۳۰٪ تا ۹۰٪ از ژن‌های بیان شده توسط مادر و پدر در آندوسپرم آراییدوپسیس را به ترتیب توضیح دهند (باتیستا و کوهر، ۲۰۲۰)، تنظیم بسیاری از ژن‌های نشانه گذاری شده دیگر نه شامل متیلاسیون DNA و نه هیستون می شود. این امر به ویژه برای ژن‌های نشانه گذاری شده در جنین صادق است، جایی که به نظر می رسد هیچ کدام از ۱۲ ژن آزمایش شده توسط متیلاسیون DNA تنظیم نمی شوند و تنها سه ژن توسط جهش یافته هایی که بر کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ اثر گذاشتند، تحت تأثیر واقع شدند (ریسیگ و همکاران، ۲۰۱۳).



شکل ۵-۹: مدل های مختلف برای تنظیم نشانه گذاری ژنومی در آندوسپرم. رویدادهای پیشنهادی برای تنظیم نشانه گذاری های گامتی در سلول مرکزی و اسپرم نشان داده شده است. برای ژن های بیان شده توسط مادر، ایجاد نشانه گذاری های متیلاسیون DNA افتراقی، از طریق دمتیلاسیون یا متیلاسیون از آغاز خاص، مهم است. برای ژن های بیان شده توسط پدر، سه سناریو شامل کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ نشان داده شده است. برای جزئیات به متن مراجعه کنید (از باتیستا و کوهر، ۲۰۲۰).

همچنین موارد متعددی از ژن‌های نشانه‌گذاری شده بیان شده در ذرت یا آندوسپرم آرابیدوپسیس حامل منطقه متیله افتراقی وجود دارد که با این حال، از والدین به ارث نمی رسد بلکه تنها پس از لقاح ایجاد می‌شود؛ بنابراین، متیلاسیون DNA افتراقی در این موارد به عنوان نشانه‌گذاری گامتی عمل نمی‌کند.

همچنین از طریق مطالعات دقیق‌تر در مورد مکان *MEA* نشان داده شد که نشانه‌گذاری می‌تواند بسیار پیچیده باشد. بیان آلل *MEA* مادری به دمتیلاسیون توسط *DME* بستگی دارد و پس از لقاح، آلل پدری توسط کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲- بذر مستقل لقاح تولیدشده توسط مادر سرکوب می‌شود. مورد دوم از چندین مطالعه نتیجه‌گیری شد که در آن یک ژن گزارشگر پدری که توسط پروموتور *MEA* هدایت می‌شد در تلاقی با مادران *mea* فعال شد. با این حال، بررسی ژن درون زاد متعاقباً نشان داد که دپرشن آلل پدری حداقل بود و *MEA* همچنان بیان آللی به شدت جانبدارانه را نشان داد. علاوه بر این، نشانه‌گذاری می‌توانست به ژن گزارشگر با استفاده از تنها ۲۰۰ جفت باز پروموتور *MEA* که کاملاً فاقد هر متیلاسیون DNA در گامت‌ها است، اعطا کند. این اولین گزارش از عنصر کنترل نشانه‌گذاری مستقل از متیلاسیون DNA بود که متعاقباً در پستانداران نیز یافت شد. از آنجایی که نه کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ و نه متیلاسیون DNA برای بیان *MEA* نشانه‌گذاری شده مورد نیاز نیست، نشانه‌گذاری‌های اولیه مبهم باقی می‌مانند (ورمن و همکاران ۲۰۱۲). پیشنهاد شد که، مشابه *PHE1*، حلقه‌های کروماتین ممکن است بسته به وضعیت متیلاسیون DNA نواحی کناری تشکیل شوند، در نتیجه از دسترسی عوامل نشانه‌گذاری‌کننده که نشانه‌گذاری گامتی هنوز ناشناخته را ایجاد می‌کند، جلوگیری می‌کند.

در نهایت، شناسایی *PHE1* به عنوان هدف کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲- بذر مستقل از لقاح، وجود آبشار تنظیمی گسترده کنترل‌کننده تکوین بذر را نشان داد که مبتنی بر نشانه‌گذاری ژنومی است. ژن‌های نشانه‌گذاری شده بیان شده مادری *MEA* و بذر مستقل از لقاح ۲، بیان پدری *PHE1* را کنترل می‌کنند، یک عامل رونویسی که به نوبه خود، تعداد زیادی از ژن‌های نشانه‌گذاری شده بیان شده پدری را در آندوسپرم تنظیم می‌کند؛ بنابراین، تنظیم ژن اپی ژنتیک نقش عمده‌ای در تکوین بذر ایفا می‌کند.

۵-۵- تکامل نشانه‌گذاری ژنومی

چندین فرضیه برای تبیین تکامل نشانه‌گذاری ژنومی ارائه شده است. در بین این فرضیه‌ها، نظریه تعارض والدین دیوید هیگ تا حد زیادی بیشترین توجه را از سوی زیست‌شناسانی که روی نشانه گذاری کار می‌کنند، به خود جلب کرد. هیگ سعی کرد توضیحی پیدا کند که چرا نشانه‌گذاری در جانداران مختلف مانند پستانداران و گیاهان دانه‌دار تکامل یافته است (هایگ و وستوبی، ۱۹۸۹). او

متوجه شد که هر دو یک عادت جفتی دارند، یعنی تکوین بذرها و جنین ها تنها به منابعی بستگی دارند که توسط مادر ارائه می شود. در واقع، هم جفت پستانداران و هم آندوسپرم گیاهان دانه دار، بافت های اصلی با بیان ژن نشانه گذاری شده هستند و نقش مرکزی در تأمین مواد مغذی برای نسل بعدی دارند. در مقابل، پدر مشارکت ناچیزی در حمایت از فرزندان در حال تکوین دارد. در گونه های چندهمسری، به دلیل روابط خویشاوندی مختلف، این امر منجر به مغایرت والدینی بین ژنوم های پدری و مادری در فرزندان می شود. مادر به طور یکسان مربوط (منسوب) به تمام فرزندان است و (اپی) ژنوتیپ های ممتاز هستند که منجر به توزیع یکنواخت منابع بین تمام فرزندان در طول زندگی اش می شود. در مقابل، ژنوم پدری در همه فرزندان یکسان نیست، به طوری که (اپی) ژنوتیپ هایی ممتاز هستند که منجر به دریافت افزایشی مواد مغذی به ضرر خواهر و برادرهای غیرمرتبط می شود. این مغایرت والدینی منجر به بیان سوگیرانه ژن های دخیل در دریافت مواد مغذی از مادر و در نتیجه رشد بذر یا جنین می شود. این نظریه پیش بینی های تکاملی واضحی را ارائه می کند: اولاً، ژن های بیان شده توسط پدر باید رشد فرزندان را تقویت کنند و دوم، ژن های بیان شده توسط مادر باید آن را کاهش دهند.

شواهد اساسی در حمایت از نظریه تعارض والدینی وجود دارد (پیرس و گروسنیکلاوس، ۲۰۱۴). به عنوان مثال، آندوسپرم در تلاقی های والدین با پلوئیدی متفاوت که تعداد ژنوم های پدری را افزایش می دهد، بیش از حد تکثیر می شود، در حالی که در بذرهایی با ژنوم های مادری مازاد، کمتر تکثیر می شود و زودتر تمایز پیدا می کند (هیگ و وستوبی، ۱۹۸۹). به طور مشابه، جنین های موش آندروژنتیک یک تروفوبلاست بزرگ را تشکیل می دهند که از آن قسمت جنینی جفت تشکیل می شود، در حالی که جنین های ژنوتیک یک تروفوبلاست تکوین نیافته را تولید می کنند. نظریه تعارض والدین نیز با توزیع فیلوژنتیک آن در مهره داران پشتیبانی می شود. ژن هایی که در پستانداران نشانه گذاری می شوند در ماهی و پرندگان به صورت دو الی بیان می شوند که در آن میزان منابع ذخیره شده در تخمک قبل از لقاح توسط مادر تعیین می شود، به طوری که ژنوم پدری در بافت های زیگوت نمی تواند بر جذب مواد مغذی از مادر تأثیر بگذارد. این موضوع برای پستانداران تخم گذار مانند پلاتیپوس و اکیدنا نیز صادق است اما برای کیسه داران صدق نمی کند. در کیسه داران، بیشتر تکوین فرزندان در کیسه اتفاق می افتد که از دیدگاه تئوری تعارض والدین معادل رحم در پستانداران یوتری^۱ یا بذر در گیاهان است.

به طور چشمگیری پیش بینی های نظریه تعارض والدین در سطح ژن های فردی نیز انجام می شود. به عنوان مثال، MEA یک ژن بیان شده توسط مادر است و پیش بینی می شود که رشد را محدود کند.

¹. Eutherian

در واقع، بذره‌های در حال تکوین از گامت‌های جهش‌یافته *mea* قبل از سقط شدن هم در جنین و هم آندوسپرم بیش از حد تکثیر می‌شوند (گروسنیکلاوس و همکاران، ۱۹۹۸). به‌طور مشابه، انتظار می‌رود ژن فاکتور رشد شبه انسولین ۲ بیان‌شده توسط پدر باعث رشد جنین در موش شود و مطابق با این تئوری، جهش‌یافته‌ها ۴۰ درصد کاهش وزن هنگام تولد در مقایسه با خواهر و برادرهای نوع وحشی خود دارند. در مقابل، جنین‌هایی فاقد ژن گیرنده فاکتور رشد شبه انسولین نوع ۲ بیان‌شده توسط مادر که گیرنده فاکتور رشد شبه انسولین ۲ را رمز می‌کنند، قبل از مرگ رشد بیش از حد را نشان می‌دهند. جالبتر از همه، جهش‌یافته‌های مضاعف از نظر اندازه طبیعی و زنده هستند. در واقع، گیرنده فاکتور رشد شبه انسولین نوع ۲ گیرنده‌ای است که به عامل رشد فاکتور رشد شبه انسولین ۲ متصل می‌شود اما آن را به سمت لیزوزوم هدایت می‌کند و از عمل محرک رشد آن جلوگیری می‌کند؛ بنابراین، گیرنده فاکتور رشد شبه انسولین نوع ۲ نوعی دام است که از ژنوم مادر برای حذف عامل رشد فاکتور رشد شبه انسولین ۲ تولیدشده توسط پدر بیان می‌شود: بازتاب مولکولی کشمکش بین ژنوم‌های مادر و پدر.

تئوری تعارض والدین بسیار جذاب است؛ زیرا تکامل نشانه‌گذاری در پستانداران و گیاهان را توضیح می‌دهد. طبق اطلاعات من، فنوتیپ‌های همه ژن‌های نشانه‌گذاری‌شده که عملکردی مرتبط با رشد دارند، چه در طول جنین‌زایی یا در موش‌ها، هم‌چنین پس از تولد، به‌عنوان مثال، با کنترل رفتار تغذیه، با نظریه تعارض والدین سازگار است. این امر شامل برخی از ویژگی‌های بالینی بیماران مبتلا به سندرم‌های مرتبط با خوشه‌های ژن نشانه‌گذاری‌شده، است که اغلب بر وزن هنگام تولد یا رفتار تغذیه پس از تولد تأثیر می‌گذارد. با این حال، همه ژن‌های نشانه‌گذاری‌شده، رشد را تنظیم نمی‌کنند و برای آن‌ها، نظریه تعارض والدین به‌شیوه‌ای آشکار اعمال نمی‌شود. بیش از دوازده نظریه دیگر برای تکامل نشانه‌گذاری ارائه شده است (اسپنسر و کلارک، ۲۰۱۴). بسته به جاندار و عملکرد ژن نشانه‌گذاری‌شده، نیروهای انتخابی متمایز ممکن است منجر به تکامل نشانه‌گذاری ژنومی شوند. با این حال، بیشتر نظریه‌های جایگزین، توزیع فیلوژنتیکی عجیب و غریب نشانه‌گذاری ژنومی، یعنی تکامل آن در پستانداران و گیاهان دانه را توضیح نمی‌دهند.

پیام کلی این فصل که باید به خاطر سپرد.

- نشانه گذاری ژنومی پارادایم تنظیم ژن اپی ژنتیکی است که به طور مستقل در گیاهان دانه دار و پستانداران تکامل پیدا کرده است.
- نشانه گذاری ژنومی منجر به بیان ژن وابسته به منشأ والد می شود، ژنوم های والدین را غیرهم ارز می کند و به جنسیت فرد مربوط نمی شود.
- نشانه گذاری های اولیه یا گامتی، علائم اپی ژنتیکی افتراقی هستند که در طول گامت زایی به دست می آیند و پس از لقاح منجر به بیان ژن با سوگیری آللی می شوند.
- نشانه گذاری های گامتی باید در هر نسل در لاین زایا با توجه به جنسیت فرد دوباره تنظیم شوند. در پستانداران، آن ها در برابر برنامه ریزی مجدد ژنوم در زیگوت مقاومت می کنند که با موجی از دمتیلاسیون و متیلاسیون مجدد DNA همراه است.
- در پستانداران، ژن های نشانه گذاری شده معمولاً در خوشه هایی رخ می دهند که حاوی حداقل یک ژن بیان شده توسط مادر و پدر هستند. بیشتر خوشه ها همچنین حاوی یک RNA طولیل غیررمزکننده هستند که در تنظیم نشانه گذاری نقش دارند.
- بیان اختصاصی والدین در یک خوشه توسط عناصر کنترل نشانه گذاری که به طور متفاوت مشخص می شوند، اغلب با نشانه گذاری های متیلاسیون DNA یا به ندرت با تغییرات هیستونی که به عنوان نشانه گذاری های گامتی عمل می کنند، تنظیم می شود.
- عناصر کنترل نشانه گذاری، عناصر تنظیمی دوربردی هستند که بیان چندین ژن در خوشه را کنترل می کنند. حذف عناصر کنترل نشانه گذاری بر بیان کروموزوم حامل نشانه گذاری تأثیر می گذارد.
- در پستانداران و گیاهان دانه دار، نشانه گذاری ژنومی با متیلاسیون DNA و کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ تنظیم می شود، هرچند که اولی نقش غالب تری در پستانداران دارد. متیلاسیون افتراقی DNA می تواند منجر به تغییرات توپولوژیکی، مانند تشکیل حلقه های کروماتین شود که بیان نشانه گذاری شده را کنترل می کند.
- اگرچه به نظر می رسد RNA های غیررمزکننده در تنظیم بسیاری از خوشه های ژن نشانه گذاری شده در پستانداران نقش دارند، ولی این خوشه ها متنوع هستند و به روش های متفاوتی تنظیم می شوند، به عنوان مثال با تغییر دادن عناصر عایق.
- در گیاهان، متیلاسیون افتراقی DNA با حدود ۳۰ درصد ژن های نشانه گذاری شده بیان شده مادری مرتبط است؛ بقیه مکانیسم های تنظیمی ناشناخته است. بیشتر ژن های بیان شده پدری توسط کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲، متیلاسیون DNA یا ترکیبی از آن ها کنترل می شوند.
- ژن های نشانه گذاری شده نقش مهمی در تکوین و رفتار دارند و در توافق با نظریه تعارض والدین برای تکامل نشانه گذاری، بسیاری از آن ها رشد را هم در پستانداران و هم در گیاهان دانه دار تنظیم می کنند.

منابع

- Barlow DP, Bartolomei MS (2014) Genomic imprinting in mammals. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6:a018382. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018382>
- Barlow DP, Stöger R, Herrmann BG, Saito K, Schweifer N (1991) The mouse insulin-like growth factor type-2 receptor is imprinted and closely linked to the Time locus. *Nature* 349:84-87.
- Baroux C, Spillane C, Grossniklaus U (2002) Genomic imprinting during seed development. *Adv Genet* 46:165-214. [https://doi.org/10.1016/s0065-2660\(02\)46007-5](https://doi.org/10.1016/s0065-2660(02)46007-5).
- Bartolomei MS, Zemel S, Tilghman SM (1991) Parental imprinting of the mouse H19 gene. *Nature* 351:153-155.
- Batista RA, Köhler C (2020) Genomic imprinting in plants - revisiting existing models. *Genes Dev* 34:24-36. <https://doi.org/10.1101/gad.332924.119>.
- Choi Y, Gehring M, Johnson L, Hannon M, Harada JJ, Goldberg RB, Jacobsen SE, Fischer RL (2002) DEMETER, a DNA glycosylase domain protein, is required for endosperm gene imprinting and seed viability in Arabidopsis. *Cell* 110:33-42. [https://doi.org/10.1016/S0092-8674\(02\)00807-3](https://doi.org/10.1016/S0092-8674(02)00807-3).
- Cooper DW, Vande Berg JL, Sharman GB, Poole WE (1971) Phosphoglycerate kinase polymorphism in kangaroos provides further evidence for paternal X inactivation. *Nat New Biol* 230:155-157. <https://doi.org/10.1038/newbio230155a0>.
- DeChiara TM, Robertson EJ, Efstratiadis A (1991) Parental imprinting of the mouse insulin-like growth factor 11 gene. *Cell* 64:849-859.
- Evans MMS, Grossniklaus U (2008) The maize megagametophyte. In: Bennetzen J, Hake S (eds) *Handbook of maize: its biology*. Springer, New York, pp 79-104. <https://www.springer.com/gp/book/9780387794174>.
- Grossniklaus U, Vielle-Calzada J-P, Hoepfner MA, Gagliano WB (1998) Maternal control of embryo- genesis by MEDEA, a Polycomb-group gene in Arabidopsis. *Science* 280:446-450.
- Haig D, Westoby M (1989) Parent-specific gene expression and the triploid endosperm. *Am Nat* 134:147-155. <https://doi.org/10.1086/284971>.
- Hsieh TF, Ibarra CA, Silva P, Zemach A, Eshed-Williams L, Fischer RL, Zilberman D (2009) Genome- wide demethylation of Arabidopsis endosperm. *Science* 324:1451-1454. <https://doi.org/10.1126/science.1172417>.
- Inoue A, Jiang L, Lu F, Suzuki T, Zhang Y (2017) Maternal H3K27me3 controls DNA methylation- independent imprinting. *Nature* 547:419-424. <https://doi.org/10.1038/nature23262>.
- Iqbal K, Jin SG, Pfeifer GP, Szabó PE (2011) Reprogramming of the paternal genome upon fertilization involves genome-wide oxidation of 5-methylcytosine. *Proc Natl Acad Sci USA* 108:3642-3647. <https://doi.org/10.1073/pnas.1014033108>.
- Kermicle JL (1970) Dependence of the R-mottled aleurone phenotype in maize on mode of sexual transmission. *Genetics* 66:69-85. PMID: 17248508.
- Köhler C, Page DR, Gagliardini V, Grossniklaus U (2005) The Arabidopsis thaliana MEDEA Polycomb group protein controls expression of PHERESI by parental imprinting. *Nat Genet* 37:28-30. <https://doi.org/10.1038/ng1495>.

- Loppin B, Oakey RJ (2009) Genomic imprinting in Singapore. *EMBO Rep* 10:222-227. <https://doi.org/10.1038/embor.2009.20>.
- McGrath J, Solter D (1984) Completion of mouse embryogenesis requires both the maternal and paternal genomes. *Cell* 37:179-183. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(84\)90313-1](https://doi.org/10.1016/0092-8674(84)90313-1).
- Messing J, Grossniklaus U (1999) Genomic imprinting in plants. *Results Probl Cell Differ* 25:23-40. https://doi.org/10.1007/978-3-540-69111-2_2.
- Metz CW (1938) Chromosome behavior, inheritance and sex determination in *Sciara*. *Am Nat* 72:485-520. <https://www.jstor.org/stable/2457532>.
- Monk D, Mackay DJG, Eggermann T, Maher ER, Riccio A (2019) Genomic imprinting disorders: lessons on how genome, epigenome and environment interact. *Nat Rev Genet* 20:235-248. <https://doi.org/10.1038/s41576-018-0092-0>.
- Oakey RJ, Beechey CV (2002) Imprinted gene: identification by chromosome rearrangements and post-genomic strategies. *Trends Genet* 7:359-366. [https://doi.org/10.1016/S0168-9525\(02\)02708-7](https://doi.org/10.1016/S0168-9525(02)02708-7).
- Pires ND, Grossniklaus U (2014) Different yet similar: evolution of imprinting in flowering plants and mammals. *F1000Prime Rep* 6:63. <https://doi.org/10.12703/P6-63>.
- Raissig MT, Bemer M, Baroux C, Grossniklaus U (2013) Genomic imprinting in the Arabidopsis embryo is partly regulated by PRC2. *PLoS Genet* 9:e1003862. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1003862>.
- Reik W, Walter J (2001) Genomic imprinting: parental influence on the genome. *Nat Rev Genet* 2:21-32. <https://doi.org/10.1038/35047554>.
- Sánchez L (2014) Sex-determining mechanisms in insects based on imprinting and elimination of chromosomes. *Sex Dev* 8:83-103. <https://doi.org/10.1159/000356709>.
- San Miguel JM, Bartolomei MS (2018) DNA methylation dynamics of genomic imprinting in mouse development. *Biol Reprod* 99:252-262. <https://doi.org/10.1093/biolre/i0y036>.
- Spencer HG, Clark AG (2014) Non-conflict theories for the evolution of genomic imprinting. *Heredity* 113:112-118. <https://doi.org/10.1038/hdy.2013.129>.
- Stewart KR, Veselovska L, Kelsey G (2016) Establishment and functions of DNA methylation in the germline *Epigenomics* 8:1399-1413. <https://doi.org/10.2217/epi-2016-0056>.
- Surani MA, Barton SC, Norris ML (1984) Development of reconstituted mouse eggs suggests imprinting of the genome during gametogenesis. *Nature* 308:548-550. <https://doi.org/10.1038/308548a0>.
- Vielle-Calzada J-P, Thomas J, Spillane C, Coluccio A, Hoepfner MA, Grossniklaus U (1999) Maintenance of genomic imprinting at the Arabidopsis medea locus requires zygotic DDM1 activity. *Genes Dev* 13:2971-2982.
- Walbot V, Evans MMS (2003) Unique features of the plant life cycle and their consequences. *Nat Rev Genet* 4:369-379. <https://doi.org/10.1038/nrg.1064>.
- Wöhrmann HJ, Gagliardini V, Raissig MT, Wehrle W, Arand J, Schmidt A, Tierling S, Page DR, Schöb H, Walter J, Grossniklaus U (2012) Identification of a DNA methylation-independent imprinting control region at the Arabidopsis MEDEA locus. *Genes Dev* 26:1837-1850. <https://doi.org/10.1101/gad.195123.112>.

- Wyder S, Raissig MT, Grossniklaus U (2019) Consistent reanalysis of genome-wide imprinting studies in plants using generalized linear models increases concordance across datasets. *Sci Rep* 9:1320. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-36768-4>.
- Zoghbi HY, Beaudet AL. (2016) Epigenetics and human disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 8:a019-497. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019497>.

فصل ششم

مکانیزم‌های خاموشی ژن مبتنی بر RNA

مطالبی که در این فصل یاد خواهید گرفت.

اگرچه حالت‌های اپی ژنتیک معمولاً با متیلاسیون DNA و تغییرات هیستون پس از ترجمه مرتبط هستند، ولی RNAها اغلب نقش مهمی در تنظیم آن‌ها بازی می‌کنند. نمونه‌های ویژه قبلاً در مورد جبران دُز (به فصل چهارم کتاب مراجعه کنید) و نشانه‌گذاری ژنومی (به فصل پنج کتاب مراجعه کنید) بحث شده است. در این فصل، نگاهی دقیق‌تر به کلاس خاصی از RNAهای دخیل در خاموشی ژن خواهیم داشت. اگرچه تمرکز روی مکانیسم‌های خاموشی مبتنی بر RNA در گیاهان است، اما بسیاری از اجزای آن، مانند اندونوکلازهای شبه دایسر^۱ مرتبط با RNase III یا پروتئین‌های کوچک آرگونوات^۲ متصل شونده به RNA، در حیوانات، گیاهان و قارچ‌ها حفاظت شده هستند. از یک طرف، RNAهای کوچک با هدف قرار دادن mRNAها برای تخریب یا ممانعت از ترجمه آن‌ها، در خاموش کردن پس از رونویسی نقش دارند؛ یک ویژگی که برای غربال‌های ژنتیکی در مقیاس بزرگ استفاده شده است. از سوی دیگر، آن‌ها همچنین نقش اصلی را در خاموشی ژن در سطح رونویسی ایفا می‌کنند، به عنوان مثال در سرکوب عناصر قابل انتقال در طیف گسترده‌ای از جانداران. در گیاهان، این مورد شامل یک سیستم پیچیده است که به موجب آن RNAهای کوچک از ترانسپوزون‌ها مشتق می‌شوند و متیلاسیون مستقیم DNA و تغییرات هیستون سرکوب‌کننده را به شیوه‌ای خاص برای توالی تکرار می‌کنند. نتایج اخیر، این متیلاسیون DNA وابسته به RNA را به پاراموتاسیون مرتبط می‌کند، یک پدیده اپی ژنتیکی کلاسیک که در آن یک آلل تغییر اپی ژنتیکی وراثتی را در دیگری هدایت می‌کند.

۱-۶- رفتار غیرمعمول تراریخته‌ها منجر به کشف مکانیسم‌های خاموشی جدید مبتنی بر RNA شد.

با استقرار فناوری‌های ترانسفورماسیون و استفاده روزافزون از آن‌ها در گیاهان در اواخر دهه ۱۹۸۰، آشکار شد که پیش‌بینی رفتار بیان تراژن‌ها دشوار است. در حالی که تراریخته‌هایی که بیان مورد انتظار تراژن‌ها را نشان نمی‌دادند در ابتدا دور ریخته می‌شدند، به زودی به موضوع مورد توجه تبدیل شدند. یکی از بارزترین نمونه‌ها، توصیف گل اطلسی تراریخته (*Petunia hybrida*) با بیان بیش از حد ژن چالکون سنتاز^۳ توسط کارولین ناپولی و ریچارد یورگنسن بود (ناپولی و همکاران، ۱۹۹۰). چالکون سنتاز آنزیم محدود کننده سرعت بیوسنتز آنتوسیانین را رمزگذاری می‌کند که منجر به تجمع رنگدانه بنفش در گل‌ها می‌شود (شکل ۱-۶).

^۱. Dicerlike (DCL)

^۲. Argonaute

^۳. Chalcone synthase (*CHS*)

به‌طور غیرمنتظره، به جای تولید گل‌های بنفش تیره به‌دلیل بیان بیش از حد چالکون سنتاز، بسیاری از تراریخته‌ها گل‌های سفید یا گل‌هایی با ترکیب بافت‌های بنفش و سفید تولید کردند. بررسی‌های مولکولی نشان داد که تراژن بر ژن چالکون سنتاز درون‌زاد^۱ اثر دارد و ژن تراژن و ژن چالکون سنتاز درون‌زاد به‌طور هماهنگ سرکوب شده‌اند (شکل ۶-۱). این پدیده هم‌سرکوب^۲ نامیده شد. متعاقباً، مشاهدات مشابهی در قارچ نوروسپورا کراسا^۳ گزارش شد که در آن معرفی دو تراژن مسیر بیوسنتز کاروتنوئید منجر به کاهش بیان ژن درون‌زاد شد که به آن خاموش کردن گفته می‌شود (رومانو و ماسینو، ۱۹۹۲).

خاموشی مبتنی بر RNA در حیوانات نیز کشف شد، جایی که در آن تزریق RNA سنس یا آنتی سنس *par-1* mRNA در نماتد سی الگانس منجر به تخریب رونوشت‌های *par-1* شد (گو و کمفوس، ۱۹۹۵). برخلاف مکانیسم‌های مبتنی بر کروماتین که در فصل‌های قبلی توضیح داده شد، در این موارد، خاموشی ژن در سطح پس از رونویسی^۴ رخ داد. چنین مکانیسم‌های سیتوپلاسمی همچنین می‌تواند به ایجاد حالت‌های اپی‌ژنتیکی ارثی کمک کند؛ زیرا RNAهای درگیر گاهی اوقات به‌صورت خودپایدار تقویت می‌شوند. سایر پدیده‌های خاموشی ژن مبتنی بر RNA در گیاهان (ماتزک و همکاران، ۱۹۸۹) و حیوانات (بستور و همکاران، ۱۹۹۴) در هسته رخ می‌دهند و شامل خاموشی ژن در سطح رونویسی^۵ توسط متیلاسیون DNA و تغییرات کروماتین هستند. به‌زودی مشخص شد که پدیده‌های مختلف خاموشی ژن مبتنی بر شباهت هستند، یعنی ویژگی توالی را نشان می‌دهند و مدل‌هایی شامل جفت DNA-DNA، DNA-RNA و RNA-RNA ارائه شده است.

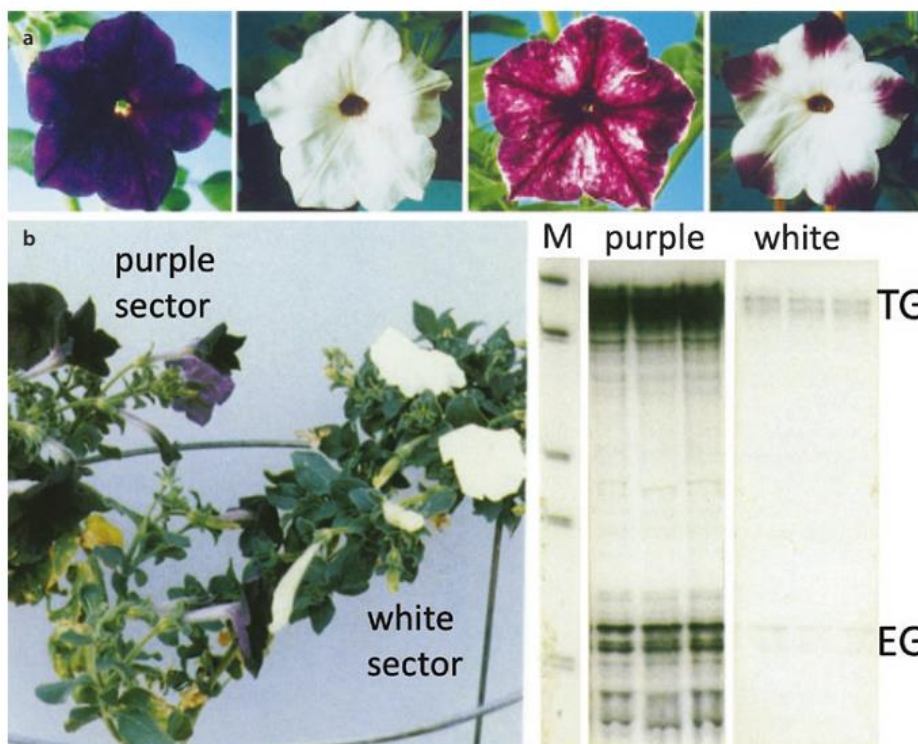
^۱. Endogenous

^۲. Co-suppression

^۳. *Neurospora crassa*

^۴. Post-transcriptional gene silencing (PTGS)

^۵. Transcriptional gene silencing (TGS)



شکل ۶-۱: کشف خاموشی ژن مبتنی بر RNA در گل اطلسی. a نوع وحشی به دلیل تولید آنتوسیانین که به ژن بیوسنتزی چالکون سنتاز نیاز دارد، گل‌های بنفش تولید می‌کند (پانل سمت چپ). معرفی یک تراژن چالکون سنتاز منجر به ظهور انواع فنوتیپ‌ها از جمله گل‌های کاملاً سفید (سه پانل در سمت راست) می‌شود. (استام و همکاران ۱۹۹۷). b برخی از این فنوتیپ‌ها ناپایدار هستند و بخش‌های برگشتی تولید می‌کنند (پانل سمت چپ). سنجش حفاظت RNase نشان داد که هم تراژن و هم ژن چالکون سنتاز درون‌زاد در بخش‌های بنفش بیان می‌شوند اما میزان RNA در هر دو تراژن و ژن چالکون سنتاز درون‌زاد به شدت در بخش‌های سفید (پانل‌های سمت راست) کاهش پیدا می‌کند. سه گل در هر بخش بررسی شد. M=خط نشانگر (از ناپولی و همکاران، ۱۹۹۰).

آزمایش‌های تأثیر گذار فایر و ملو (فایر و همکاران، ۱۹۹۸) در سی‌الگانس نشان داد که RNA دورشته‌ای نه تکرشته‌ای، مسئول خاموشی است که توضیح یکپارچه برای سرکوب همزمان، سرکوب و سایر پدیده‌های خاموشی ژن در سطح پس از رونویسی را ارائه می‌دهد و اکنون به عنوان مداخله RNA^۱ شناخته می‌شوند. در گیاهان و در نماتدها خاموشی ژن ارثی بود، این موضوع نشان می‌دهد که خاموشی ژن یک واسطه خاموش‌کننده پایدار است. همیلتون و باولکامب (۱۹۹۹) نشان دادند که این RNA دورشته‌ای با طول کامل نبود بلکه قطعات کوتاه‌شده با طول تقریباً ۲۵ نوکلئوتیدی بود

^۱. RNA interference (RNAi)

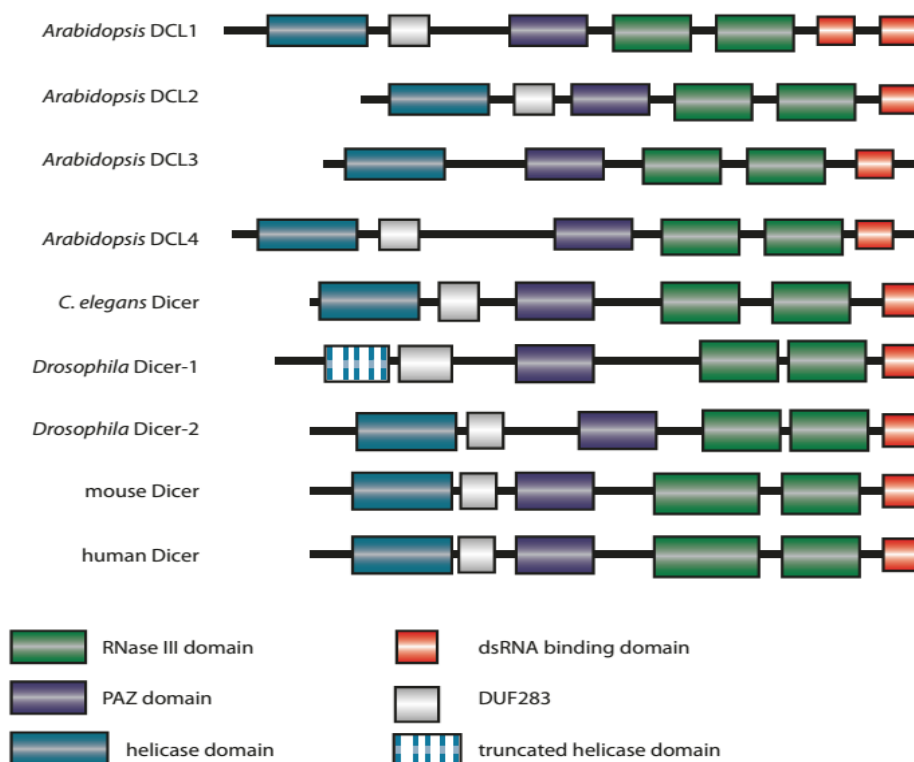
که به آن‌ها RNA های کوتاه مداخله‌گر^۱ می‌گویند. بعدها RNA های مداخله‌گر کوتاه مشابه با طول ۲۱ تا ۲۳ نوکلئوتید نیز پیدا شدند که در RNAi در مگس سرکه و سی‌الگانس نقش داشتند. اثبات این‌که RNA های دورشته‌ای ۲۱-۲۲ نوکلئوتیدی به‌صورت شیمیایی ساخته‌شده، بتوانند mRNA های هدف را در سلول‌های پستانداران نیز فروتنظیم‌کنند، راه‌های کاملاً جدیدی را برای مطالعات عملکردی در کشت سلولی باز کرد. این اکتشافات نه‌تنها تحقیقات عمیق در حوزه مکانیسم‌های اساسی را تحریک کردند، بلکه منجر به طیف گسترده‌ای از کاربردها شدند (سن و بلو، ۲۰۰۶).

۶-۱-۱- اجزای حفاظت شده مکانیسم‌های خاموشی مبتنی بر RNA

با توجه به اینکه RNA های کوتاه مداخله‌گر در مکانیسم‌های خاموشی متنوعی در حیوانات و گیاهان نقش دارند، جای تعجب نیست که آن‌ها همچنین از پروتئین‌های مشابهی استفاده می‌کنند که واسطه عملکرد RNA های کوتاه مداخله‌گر هستند. از آنجایی که مکانیسم‌ها متنوع هستند، تنها دو جزء کلیدی در اینجا معرفی می‌شود: آنزیم‌هایی که مسئول بریدن RNA دورشته‌ای به RNA های کوتاه مداخله‌گر [پروتئین‌های شبه دایسر] و آنزیم‌هایی که در برش دادن mRNA های هدف [پروتئین‌های آرگونات] نقش دارند. پروتئین‌های شبه دایسر و آرگونات اساساً برای همه مکانیسم‌های خاموشی مبتنی بر RNA اساسی هستند.

پروتئین‌های شبه دایسر (بعد از کشف دایسر به این نام، نام‌گذاری شد) در مگس سرکه از طریق رویکرد ژن کاندیدا برای آزمایش اعضای مختلف خانواده RNase III جهت توانایی شکستن dsRNA به RNA های کوتاه مداخله‌گر، شناسایی شدند (برنشتاین و همکاران، ۲۰۰۱). پروتئین‌های شبه دایسر دارای ساختار حفاظت‌شده‌ای هستند، با دو دامین RNase III که dsRNA را می‌شکنند، یک دامین PAZ که به انتهای ۳' dsRNA متصل می‌شود و یک دامین هلیکاز که دورشته‌های dsRNA را باز می‌کند (شکل ۶-۲). در برخی از گونه‌ها، به‌عنوان مثال، گیاه مدل آرابیدوپسیس، خانواده متنوع و اعضای مختلف عملکردهای تخصصی دارند.

^۱. Interfering RNAs (siRNAs)



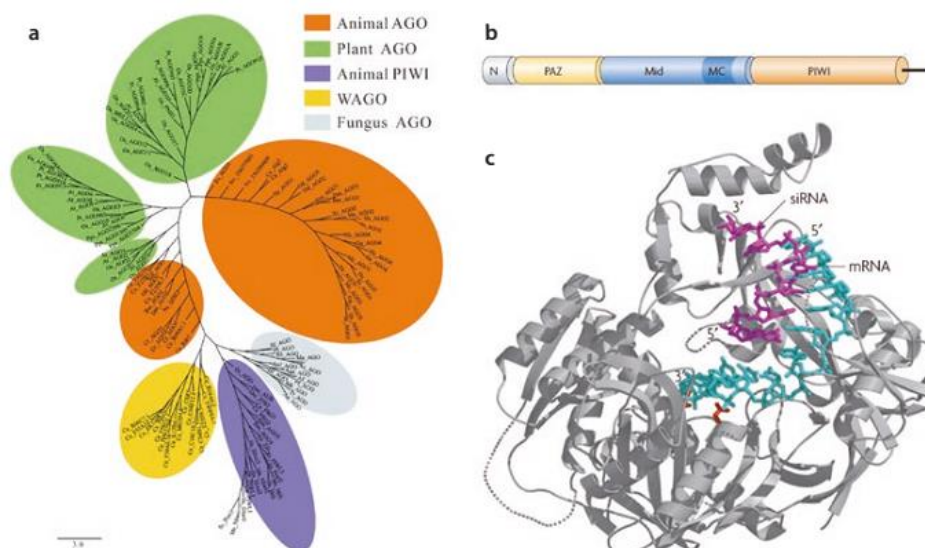
شکل ۶-۲: سازماندهی دامین پروتئین‌های شبه دایسر یوکاریوت‌های مختلف. پروتئین‌های شبه دایسر مسئول خرد کردن dsRNA از منشأ متنوع هستند، به عنوان مثال، مشتق شده از تراژن‌ها، ژن‌های درون‌زاد یا ویروس‌ها، به RNA های کوتاه مداخله‌گر. آن‌ها همچنین برای بیوسنتز میکرو RNA ها، RNA های کوچک تنظیمی تولید شده از ساختارهای حلقه-ساقه تشکیل شده از طریق رونوشت‌های مکان‌های درون‌زاد، بسیار مهم هستند. دامین‌های RNase III مسئول خرد کردن هستند، درحالی‌که سایر دامین‌ها در اتصال dsRNA هدف نقش دارند. (از جوهانسون و همکاران، ۲۰۱۳).

خانواده دیگری از پروتئین‌های دخیل در مسیرهای خاموشی متنوع، پروتئین‌های آرگونات هستند که زیر واحد کاتالیتیک یک کمپلکس خاموشی القاشده با RNA^۱ هستند که mRNA های هدف را برش می‌دهند؛ مانند پروتئین‌های شبه دایسر، آرگونات‌ها دارای یک دامین PAZ هستند که به انتهای ۳' dsRNA متصل می‌شوند، در این مورد RNA های کوتاه مداخله‌گر تولید شده توسط پروتئین‌های شبه دایسر می‌توانند با mRNA های هدف جفت باز مکملی ایجاد کنند. آرگونات‌ها از طریق دامین PIWI خود می‌توانند mRNA هدف مکمل با RNA مداخله‌گر کوتاه را برش دهند (شکل ۶-۳). با

^۱. MicroRNAs (miRNAs)

^۲. RNA-induced silencing complex (RISC)

این حال، شکستن mRNA تنها نتیجه جفت شدن باز با RNA مداخله گر کوتاه نیست؛ بسته به مسیر خاموشی و نوع کمپلکس خاموشی القاشده با RNA، ترجمه mRNA در عوض می تواند مسدود شود. پروتئین‌های آرگونات همچنین می توانند به کمپلکس دیگری به نام کمپلکس خاموشی رونویسی القاشده با RNA^۱ وارد شوند که مناطق هومولوگ DNA را هدف قرار می دهند. سپس کمپلکس خاموشی رونویسی القاشده با RNA آنزیم‌هایی را به خدمت می گیرد که متیلاسیون DNA و/ یا تغییرات هیستون را میانجی گری می کنند که با خاموشی ژن در سطح رونویسی مرتبط هستند.



شکل ۳-۶: درخت تبارشناسی و ساختار دمین پروتئین‌های آرگونات. درخت تبارشناسی بدون ریشه ۱۳۵ پروتئین آرگونات. پروتئین‌های آرگونات به سه کلاد اصلی تقسیم می شوند: پروتئین‌های آرگونات از گیاهان، حیوانات و قارچ‌ها که به miRNA ها یا RNA های کوتاه مداخله گر متصل می شوند، پروتئین‌های PIWI که به RNA های برهم کنشی با Piwi^۲ که فقط در رده زایای حیوانات بیان می شود و کلاد WAGO مخصوص کرم. در برخی از گونه‌ها، این خانواده بسیار متنوع است، به عنوان مثال، در آرابیدوپسیس و سی‌الگانس به ترتیب ۱۰ و ۲۵ عضو دارد (از وی و همکاران، ۲۰۱۳).
b ساختار دمین پروتئین‌های آرگونات با دمین PAZ که به RNA های کوتاه مداخله گر متصل می شود، دمین PIWI که mRNA هدف را می شکند و دمین شبیه اتصالی به کلاهی MC که داخل دمین Mid قرار دارد، دمین‌های PAZ و PIWI را به هم متصل می کند (از هیوتواگنر و سیمارد، ۲۰۰۸). **c** ساختار کریستالی یک پروتئین آرگونات که انتهای ۳' RNA کوتاه مداخله گر را به رنگ بنفش و بخشی از mRNA به رنگ فیروزه‌ای نشان داده شده است؛ باقی مانده‌های فعال دمین PIWI با رنگ قرمز نشان داده شده است (از سونگ و همکاران، ۲۰۰۴).

^۱. RNA-induced transcriptional silencing (RITS)

^۲. Piwi-interacting RNAs (piRNAs)

۲-۶- خاموشی ژن پس از رونویسی

طیف گسترده‌ای از RNA های کوچک وجود دارد که در هدف قرار دادن mRNA ها برای تخریب یا مهار ترجمه در سطح پس از رونویسی نقش دارند. بقیه RNA های کوچک با ایجاد کروماتین سرکوب کننده در خاموشی توالی خاص ژن ها در سطح رونویسی نقش دارند (پیکارد و میتلستن شید ۲۰۱۴). این RNA های کوچک می توانند از تراژن ها یا ویروس ها (RNA مداخله گر کوتاه) مشتق شوند، اما بسیاری از آن ها به صورت درون زاد در طول چرخه زندگی گیاه تولید می شوند، از جمله میکرو RNA ها، RNA های کوتاه مداخله گر سنجاق سری^۱، RNA های کوتاه مداخله گر ترانس-اکتینگ^۲، RNA های کوتاه مداخله گر فازی^۳ تولید شده در طول تکوین بساک و RNA های کوتاه مداخله گر فعال اپی ژنتیکی^۴ که در سلول های اسپرم تجمع پیدا می کنند (شکل ۶-۴). در اینجا، زیست زایی و عملکرد تنها چند نوع انتخاب شده از RNA های کوچک را بررسی خواهیم کرد (بورگز و مارتینسن، ۲۰۱۵).

۲-۶-۱- زیست زایی و عملکرد میکرو RNA ها

در حیوانات و در گیاهان، میکرو RNA ها با محدود کردن عملکرد mRNA های هدف خود برای سلول ها یا بافت های خاص از طریق تخریب یا سرکوب ترجمه، نقش های مهمی در تکوین ایفا می کنند؛ بنابراین، آن ها بیان ژن را در سطح پس از رونویسی تنظیم می کنند و تا زمانی که در همان سلول mRNA هدف حضور دارند، اثرگذار هستند. از آنجا که آن ها منجر به تغییر ارثی بیان ژن نمی شوند، اغلب به عنوان تنظیم کننده اپی ژنتیک در نظر گرفته نمی شوند. یک تغییر اپی ژنتیکی در بیان ژن ادامه می یابد، حتی اگر محرک اولیه تکوینی یا محیطی نباشد (به فصل سوم کتاب مراجعه کنید). با این وجود، به دلیل اینکه زیست زایی و عملکرد آن ها شبیه به عمل اپی ژنتیکی است، RNA های کوتاهی که سطح آن ها پایدار است، به عنوان مثال توسط RNA پلیمراز وابسته به RNA^۵ که dsRNA ها را در حلقه پیش نورد تولید می کنند، در این قسمت نیز بحث می شود.

میکرو RNA ها از ژن های رونویسی شده RNA پلیمراز II مشتق شده اند که پروتئین ها را رمز گذاری نمی کنند، اما می توانند از توالی های RNA های طویل غیر رمز کننده یا اینترون های ژن های رمز کننده پروتئین نیز نشأت بگیرند. این RNA های پیش ساز خاصیت کش آمدن خود تکمیلی دارند و می توانند ساختارهای RNA های سنجاق سری ناقص یا ساختارهای حلقه-ساقه را تشکیل دهند

¹. Hairpin siRNAs (hp-siRNA)

². Trans-acting siRNAs (tasiRNAs)

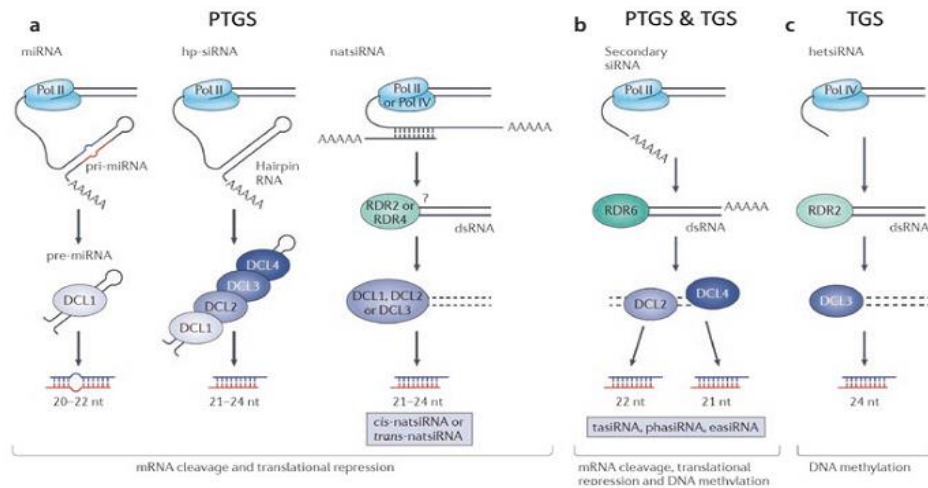
³. Phased siRNAs (phasi RNAs)

⁴. Epigenetically activated siRNA (easiRNA)

⁵. RNA-dependent RNA polymerases (RDRs)

که سپس به میکرو RNAها پردازش می‌شوند. در پستانداران، این پیش‌میکرو RNAها توسط اندونوکلاز نوع RNase III دروشا در یک طرف حلقه در هسته شکسته می‌شود. سپس پیش‌میکرو RNA تاحدی پردازش شده به سیتوپلاسم منتقل می‌شود؛ جایی که دایسر ساقه ۲۲ نوکلئوتیدی بیرون از محل شکست، دروشا را برش می‌دهد تا یک RNA دورشته‌ای متشکل از میکرو RNA و رشته مکمل آن را تولید کند. در گیاهان، هر دو شکاف توسط شبه دایسر ۱ در هسته انجام می‌شود و منجر به ایجاد میکرو RNA دورشته‌ای به طول ۲۱ نوکلئوتید می‌شود (شکل ۶-۴). قبل از اینکه اینها به سیتوپلاسم فرستاده شوند، توسط HUA ENHANCER1 (HEN1) پردازش می‌شوند که ۳- ریبوز انتهای هر رشته RNA را متیله می‌کند تا از میکرو RNA در برابر تخریب محافظت کند. سپس میکرو RNA به آرگونات ۱ آرآبیدوپسیس (گاهی اوقات آرگونات ۱۰ / آرگونات ۷) متصل می‌شود تا یک کمپلکس خاموشی القاشده با RNA تشکیل شود که mRNA هدف را برش دهد یا ترجمه آن را مسدود کند.

در گیاهان، میکرو RNA به طور معمول رابطه مکملی تقریباً کاملی را با mRNA هدف ایجاد می‌کند که این امر منجر به برش در بیشتر موارد می‌شود. در مقابل، میکرو RNA های حیوانی به ندرت دارای رابطه مکملی کامل با mRNA هدف هستند و اغلب باعث مهار ترجمه می‌شوند. همچنین در گیاهان، برخی از میکرو RNA ها ترجمه را در ترکیب با برش دادن رونوشت مسدود می‌کنند. بسیاری از میکرو RNA های گیاهی عوامل رونویسی را هدف قرار می‌دهند و اغلب در طول تکامل حفظ می‌شوند، این امر نشان‌دهنده نقش‌های تنظیمی مهم در طول تکوین است. اگرچه توالی‌های رمزگذاری این عوامل رونویسی به طور قابل توجهی از هم فاصله گرفته‌اند، اما مکان‌های هدف روی mRNA ها که با میکرو RNA ها مطابقت دارند تقریباً ثابت هستند. سایر میکرو RNA ها از نظر تکاملی جوان و اغلب اختصاصی برای یک دودمان سلولی هستند. در آرآبیدوپسیس، این میکرو RNA های ویژه دودمان گاهی اوقات توسط شبه دایسر ۴ پردازش می‌شوند، درحالی که شبه دایسر ۱ برای اکثریت قریب به اتفاق miRNA ها مورد نیاز است.



شکل ۴-۶: مسیرهای مختلف زیست‌زایی RNA کوچک در گیاهان. a مسیرهایی که در خاموشی ژن در سطح پس از رونویسی نقش دارند: رونوشت‌های ژن‌های میکرو RNA، ساختارهای شبیه سنجاق سر (pri-miRNA) را تشکیل می‌دهند که توسط DCL1 به ساختارهای حلقه-ساقه کوتاه‌تر (pre-miRNA) و سپس به miRNA دورشته‌ای بالغ برش داده می‌شود. ساختارهای سنجاق سر طول‌تر می‌توانند از تکرارهای معکوس سرچشمه بگیرند و توسط تمام پروتئین‌های شبه دایسر به hp-siRNA ها پردازش شوند. آن‌ها ممکن است نشان‌دهنده مرحله اولیه تکامل میکرو RNA باشند. natsiRNA ها از dsRNA تولیدشده توسط رونویسی هم‌پوشان (cis-natsiRNAs) یا از رونوشت‌هایی با نواحی مکمل بالا که از جایگاه‌های دور (trans-natsiRNA) نشأت می‌گیرند، مشتق می‌شوند. RNA پلیمرازهای وابسته به RNA احتمالاً در گسترش dsRNA که توسط شبه دایسرهای مختلف بریده می‌شود، نقش دارند. b RNAهای کوتاه مداخله‌گر ثانویه روی رونوشت‌هایی متفاوت از رونوشت‌هایی که آن‌ها را تولید کرده‌اند عمل می‌کنند و در هر دو خاموشی ژن در سطح پس از رونویسی و خاموشی ژن در سطح رونویسی نقش دارند. رونوشت‌ها از مکان‌های غیررمزکننده، ژن‌های رمزکننده پروتئین یا ترانسپوزون‌ها می‌آیند و توسط RNA پلیمراز وابسته به RNA ۶ به dsRNA تبدیل می‌شوند و توسط شبه دایسر ۲ و شبه دایسر ۴ به کلاس‌های مختلفی از RNAهای کوتاه مداخله‌گر پردازش می‌شوند. به عنوان مثال، tasiRNA ها از رونوشت‌های غیررمزکننده ژن‌های خاص *TAS1* تا *TAS4* در *Arabidopsis* مشتق می‌شوند که توسط میکرو RNAهای خاص که برش آن‌ها را وساطت می‌کنند، هدف قرار داده می‌شوند (به عنوان مثال miR173-AGO1 برای *TAS1/TAS2*؛ mir390-AGO7 برای *TAS3*). محصول برش ۳' توسط RNA پلیمراز وابسته به RNA 6 به dsRNA تبدیل می‌شود و سپس به طور متوالی توسط شبه دایسر ۴ به tasiRNAهایی با طول ۲۱ نوکلئوتید بریده می‌شود که نسبت به محل برش میکرو RNA برنامه‌ریزی می‌شود؛ بنابراین، tasiRNAها توالی‌های مشخصی دارند و مانند میکرو RNAها برای برش دادن یا مهار mRNAهای هدف خود عمل می‌کنند. c RNAهای کوتاه مداخله‌گر هتروکروماتیک (hetsiRNAs) از ترانسپوزون‌ها و تکرارها نشأت می‌گیرند که اغلب در مناطق پیرامون سانترومری قرار دارند. آن‌ها به رونویسی توسط RNA پلیمراز IV، سنتز dsRNA توسط RNA پلیمراز وابسته به RNA ۲ و برش به RNAهای کوتاه مداخله‌گر به طول ۲۴ نوکلئوتید توسط شبه دایسر ۳ بستگی دارند. hetsiRNAها متیلاسیون DNA وابسته به RNA را میانجی‌گری می‌کنند (بورگس و مارتینسن، ۲۰۱۵).

۶-۲-۲- دفاع ژنومی توسط خاموشی با وساطت RNA های کوتاه مداخله‌گر

یک دسته مهم از RNA های کوچک، RNA های کوتاه مداخله‌گر هستند که خاموشی ژن در سطح پس از رونویسی را برای دفاع از ژنوم در برابر ویروس‌ها و میکروب‌ها القا می‌کنند (پیکارد و میتلسن، ۲۰۱۴). بیشتر ویروس‌های گیاهی دارای ژنوم ssRNA هستند که تکثیر آن به یک RNA پلیمراز وابسته به RNA درون‌زاد یا رمزگذاری شده توسط ویروس برای تولید واسطه‌های dsRNA که سوبستراهای پروتئین‌های شبه دایسر هستند، بستگی دارد. علاوه بر این، ویروس‌های دارای ژنوم dsRNA، سوبستراهای مستقیم برای بریده شدن هستند، همان‌طور که واسطه‌های dsRNA در طول چرخه زندگی ویروس‌های ssDNA تشکیل می‌شوند. خاموش کردن تراژن‌ها احتمالاً به دلیل فعالیت مسیرهای دفاعی مشابه ژنوم مشاهده می‌شود. تراژن‌ها اغلب به صورت چندنسخه ادغام می‌شوند که می‌توانند جهت‌گیری‌های مخالف داشته باشند. رونویسی از طریق تراژن‌های معکوس می‌تواند منجر به ساختارهای RNA شبیه سنجاق سری شود که سوبستراهای برای پروتئین‌های شبه دایسر هستند. تراژن‌ها همچنین ممکن است در کنار پروموتورهای قوی که در جهت مخالف قرار دارند، ادغام شوند که منجر به رونویسی هر دو رشته و در نتیجه تشکیل dsRNA می‌شود. در نهایت، سایر انواع ناهنجاری mRNA های مشتق شده از تراژن می‌توانند به عنوان سوبسترای برای پروتئین RNA پلیمراز وابسته به RNA عمل کنند و dsRNA را تولید کنند. خاموشی ژن در سطح پس از رونویسی ویروس‌ها و تراژن‌ها معمولاً شامل RNA های کوتاه مداخله‌گر به طول ۲۱-۲۲ نوکلئوتید است که عمدتاً توسط شبه دایسر ۲ و شبه دایسر ۴ تولید می‌شود (شکل ۶-۴).

RNA های کوتاه مداخله‌گر به طول ۲۱ نوکلئوتید، برش mRNA را توسط آرگونات ۱ هدایت می‌کنند که یک قطعه ۳' از mRNA تولید می‌کند که فاقد کلاهی ۷ متیل گوانوزین در انتهای ۵' آن است. mRNA های بدون کلاهی به سرعت توسط اگزونوکلاز حذف می‌شوند. ارتباط RNA مداخله‌گر کوتاه به طول ۲۲ نوکلئوتید با آرگونات ۱، شکافتن mRNA هدف را با به کارگیری RNA پلیمراز وابسته به RNA ۶ جفت می‌کند، به طوری که قطعه برش ۳' به dsRNA رونویسی می‌شود که سپس دوباره توسط شبه دایسر ۴ برای ساخت RNA های کوتاه مداخله‌گر ثانویه با طول ۲۱ نوکلئوتید برش داده می‌شود. شبه دایسر ۳ همچنین می‌تواند dsRNA مشتق شده از ویروس‌ها یا تراژن‌ها را برش دهد و RNA های کوتاه مداخله‌گر ۲۴ نوکلئوتیدی تولید کند (شکل ۶-۴).

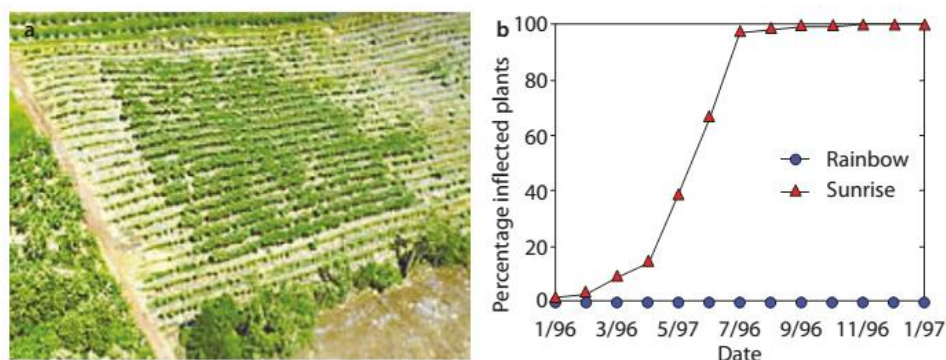
با این حال، اینها از طریق تغییرات DNA کروماتین در جایگاه‌های دارای رابطه مکملی با RNA های کوتاه مداخله‌گر منجر به خاموشی ژن در سطح رونویسی می‌شوند. روی هم رفته، این جنبه‌های متنوع القاشده توسط RNA های کوتاه مداخله‌گر پاسخ بسیار قدرتمندی به اسیدهای نوکلئیک مهاجم می‌دهد. جای تعجب نیست که ویروس‌ها انواع مختلفی از اقدامات متقابل را توسعه

می‌دهند و بسیاری از آن‌ها سرکوب‌کننده‌های خاموشی ژن را در ژنوم‌های خود رمزگذاری می‌کنند (جیانگ و همکاران، ۲۰۱۲).

کشف RNAi و مکانیسم‌های اساسی آن و اینکه بسیاری از آن‌ها در جانداران حفاظت‌شده هستند، فرصت‌های بی‌سابقه‌ای را برای استفاده از آن‌ها ایجاد کرده است. برای مثال، کشف اینکه dsDNA مصنوعی می‌تواند در سلول‌های کشت بافت برای القای RNAi استفاده شود، امکان غربال‌های گسترده ژنومی برای بررسی عملکرد ژن در سلول‌های کشت‌داده، فراهم می‌کند. این موضوع نه تنها برای تحقیقات پایه بلکه به‌ویژه برای کشف دارو در صنعت داروسازی مفید بوده است (هوکیوادو و همکاران، ۲۰۰۸). در گیاهان، miRNAها برای بررسی عملکرد ژن‌ها یا خانواده‌های ژنی با ارائه miRNAهای مصنوعی که رونوشت‌های مشتق شده از یک یا چند جایگاه را هدف قرار می‌دهند، استفاده شده است. همچنین، RNAهای کوتاه مداخله‌گر مشتق‌شده از ساختارهای سنجاق سری تراریخته که یک ژن خاص مورد علاقه را هدف قرار می‌دهند، به‌طور گسترده برای مطالعه عملکرد ژن مورد استفاده شده است. علاوه‌براین، ژنوم‌های ویروسی برای رمزکردن ژن‌های گیاهی مورد علاقه مهندسی شده‌اند. یک عفونت ویروسی منجر به تولید RNAهای کوتاه مداخله‌گر علیه ژن گیاهی درون‌زاد می‌شود که امکان مطالعات عملکردی را فراهم می‌کند. این به‌اصطلاح خاموشی ژن القاشده با ویروس^۱ به‌ویژه برای مطالعه عملکرد ژن‌ها در جانداران غیرمدلی مفید است که در آن هیچ روش تراژن کارآمدی در دسترس نیست، اما ایجاد عفونت‌ها با استفاده از چنین ویروس‌های مهندسی‌شده امکان‌پذیر است.

رویکردهای مشابه، به کاربردهای بیوتکنولوژیکی منجر شده است. یکی از موفقیت‌آمیزترین پیشرفت‌ها، توسعه گیاهان مقاوم به ویروس با استفاده از مکانیسم دفاعی گیاه مبتنی بر RNA مداخله‌گر کوتاه و هدف قراردادن آن به‌طور خاص برای ویروس بود. برای مثال، تولید پاپایا در هاوایی به‌شدت با ویروس لکه حلقه‌ای پاپایا که مزارع را در دهه ۱۹۹۰ ویران کرد، تهدید شد. معرفی یک رقم پاپایای مقاوم به ویروس اصلاح‌شده ژنتیکی در سال ۱۹۹۸ باعث نجات تولیدکنندگان پاپایا شد و مبنای تولید پاپایای فعلی در ایالات متحده آمریکا قرار گرفت (شکل ۵-۶). روش مشابهی از آن زمان برای محافظت از کدوی تابستانی استفاده شده است (گاتولا و فوج، ۲۰۰۹).

^۱. Virus-induced gene silencing (VIGS)



شکل ۵-۶: پاپایای تراریخت مقاوم به ویروس مبتنی بر RNAi علیه پروتئین پوششی ویروس لکه حلقه‌ای پاپایا. a کارآزمایی مزرعه‌ای که بلوکی از گیاهان پاپایای مقاوم رقم تراریخته Rainbow را نشان می‌دهد که با گیاهان غیرتراریخت حساس رقم Sunrise احاطه شده‌اند. b همه گیاهان تراریخت Rainbow به ویروس مقاوم بودند، درحالی‌که همه گیاهان غیرتراریخت Sunrise در عرض چند ماه پس از کارآزمایی مزرعه‌ای آلوده شدند (گانسالوز و همکاران، ۲۰۰۴).

۳-۶- خاموشی ژن در سطح رونویسی

خاموشی تراژن نه تنها با دخالت RNAهای کوتاه مداخله‌گر در سطح پس از رونویسی، بلکه شامل متیلاسیون DNA نیز است. این دو پدیده زمانی به هم مرتبط شدند که مشخص شد متیلاسیون DNA وابسته به شباهت نیز با دخالت RNAهای کوتاه مداخله‌گر است (مت و همکاران، ۲۰۰۰) و برخی جهش‌یافته‌های آرابیدوپسیس، هم خاموشی ژن در سطح پس از رونویسی و هم خاموشی ژن در سطح رونویسی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. علاوه بر این، خاموشی عناصر قابل انتقال و تکرارها برای حفظ یکپارچگی ژنوم بسیار مهم است. عدم کنترل ترانسپوزون‌ها منجر به دیسرنزیس هیبریدی درمگس سرکه می‌شود، جایی که جابه‌جایی عظیم در رده زایا منجر به عقیمی، میزان موتاسیون بالا و شکستگی کروموزومی می‌شود. در متازوئن‌ها، ترانسپوزون‌ها از طریق عمل RNAهای برهم‌کنشی با Piwi خاموش می‌شوند. این RNAها از رونوشت‌های طویل Pol II که از خوشه‌های RNA برهم‌کنشی با Piwi مشتق شده‌اند، تولید می‌شوند. این خوشه‌ها مکان‌های متشکل از ترانسپوزون‌های خانواده‌های متنوع یا قطعات مربوط به آن هستند؛ بنابراین، RNAهای برهم‌کنشی با Piwi با بسیاری از ترانسپوزون‌های پراکنده مکمل هستند. تولید آن‌ها مستقل از پروتئین‌های شبه دایسر است، اما RNAهای برهم‌کنشی با Piwi به پروتئین‌های شبیه آرگونات کلاسیک PIWI متصل می‌شوند (شکل ۳-۶) که برای زیست‌زایی آن‌ها ضروری هستند. RNAهای برهم‌کنشی با Piwi اولیه می‌تواند از طریق یک چرخه به اصطلاح پینگ‌پونگی تقویت شود و در نهایت با به کارگیری ماشینی برای ایجاد

H3K9me3 و بسته به جاندار، متیل ترانسفرازهای از نو DNA منجر به خاموش شدن ترانسپوزون‌ها شد (ارنست، ۲۰۱۷).

همچنین مشخص شد که خاموشی تکرارهای درون‌زاد، مانند موارد موجود در سانترومرها به مکانیسم‌های مبتنی بر RNA متکی است، به‌عنوان مثال در تشکیل هتروکروماتین سانترومری در آرابیدوپسیس یا مخمر شیزو ساکارومایسس پومبه^۱ (مارتین سن و موزد، ۲۰۱۵). با این حال، در اینجا، ما بر روی متیلاسیون DNA وابسته به RNA^۲، یک مکانیسم مبتنی بر RNA که عمدتاً ترانسپوزون‌های درون‌زاد و تکرارها و همچنین تراژن‌ها در گیاهان را هدف قرار می‌دهد، تمرکز می‌کنیم (ماتزک و موشر، ۲۰۱۴).

متیلاسیون DNA وابسته به RNA ابتدا در گیاهانی که به ویروس آلوده شده بودند کشف شد (واسنگر و همکاران، ۱۹۹۴). بعدها نشان داده شد که در تراژن‌های خاموش شده از لحاظ رونویسی نیز رخ می‌دهد و به RNA مداخله‌گر کوتاه و پروتئین‌های ماشین RNAi متکی است. متیلاسیون DNA وابسته به RNA یک مکانیسم بسیار پیچیده و شامل عوامل زیادی است که در غربالگری‌های ژنتیکی در جهش‌یافته‌هایی شناسایی شده است که خاموشی تراژن را کاهش دادند. علاوه بر این، جداسازی بیوشیمیایی پروتئین‌های برهم‌کنش‌کننده با عوامل شناخته شده توسط هم‌رسوب ایمنی به تکمیل تصویر کمک کرد. روی‌هم‌رفته، این مطالعات نشان داد که متیلاسیون DNA وابسته به RNA بر دو کمپلکس تخصصی RNA پلیمراز متکی است که از Pol II مشتق می‌شوند و Pol IV و Pol V نامیده می‌شوند. از نظر مفهومی، مکانیسم متیلاسیون DNA وابسته به RNA را می‌توان به سه فاز اصلی تفکیک کرد (شکل ۶-۶) (ماتزک و موشر، ۲۰۱۴).

ابتدا، Pol IV برای مکان‌های هدف توسط SHH1 به خدمت گرفته می‌شود که به H3K9me متصل می‌شود. رونوشت‌های تولید شده توسط Pol IV سپس توسط RNA پلیمراز وابسته به RNA 2 که با بازسازی کننده کروماتین CLASSY1 برهم‌کنش دارد، dsRNA را تولید می‌کند که توسط شبه دایسر ۳ به RNAهای کوتاه مداخله‌گر ۲۴ نوکلئوتیدی برش داده می‌شود. RNAهای کوتاه مداخله‌گر از طریق متیلاسیون توسط HEN1 از تخریب محافظت می‌شوند و در آرگونات ۴ گنجانده می‌شوند.

در مرحله دوم، Pol V، متیلاسیون DNA از نو جایگاه‌های هدف را با رونویسی RNA داربست مکمل با RNAهای کوتاه مداخله‌گر متصل به آرگونات ۴، میانجی‌گری می‌کند. آزمایش‌های توالی‌یابی رسوب ایمنی کروماتین نشان داد که Pol V ترانسپوزون‌ها و تکرارهای ژنومی که با متیلاسیون DNA و RNAهای کوتاه مداخله‌گر ۲۴ نوکلئوتیدی مرتبط هستند، هدف‌گیری می‌کند.

^۱. *Schizosaccharomyces pombe*

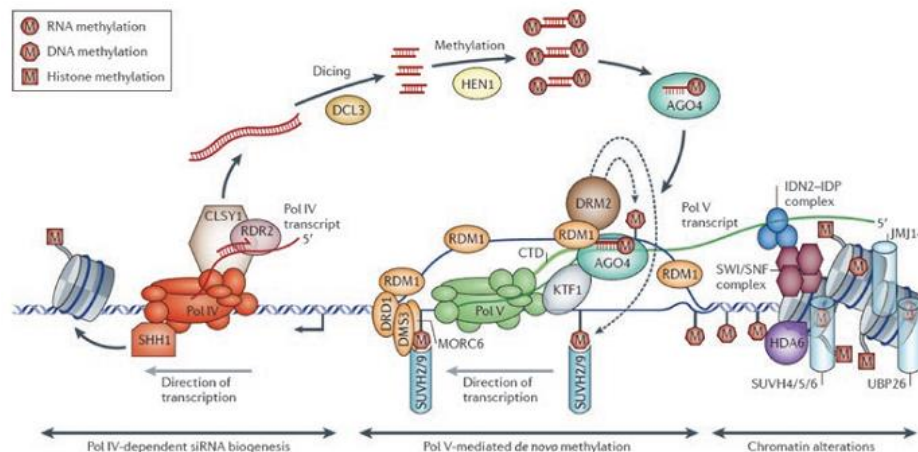
^۲. RNA-dependent DNAmethylation (RdDM)

با این حال، حدود ۲۵٪ از جایگاه‌های Pol V این ویژگی‌ها را نشان نمی‌دهند، این موضوع نشان می‌دهد که اشغال Pol V برای متیلاسیون DNA وابسته به RNA کافی نیست. به کارگیری Pol V برای مکان‌های هدف ممکن است شامل برهم‌کنش‌هایی با SUVH2 و SUVH9 باشد که هر دو به DNA متیله متصل می‌شوند. رونویسی Pol V احتمالاً از طریق بازکردن DNA توسط بازسازی کننده کروماتین DRD1 و توانایی اتصال به DNA تک‌رشته‌ای RDM1 تسهیل می‌شود که همراه با DMS3 و MORC6، ممکن است حالت باز شده را ایجاد و حفظ کند. آرگونات ۴ از طریق برهم‌کنش‌های با KTF1 و اتصال به Pol V خود برای جایگاه، به خدمت گرفته می‌شود. پروتئین RDM1 تماس منطقه متیله افتراقی ۲ با آرگونات ۴ را برقرار می‌کند و منجر به متیلاسیون DNA از نو نواحی با شباهت RNAهای کوتاه مداخله‌گر می‌شود.

در نهایت در مرحله سوم، حالت کروماتین سرکوب کننده ایجاد می‌شود. این مرحله شامل استقرار مجدد نوکلئوزوم‌ها از طریق یک کمپلکس بازسازی کننده کروماتین سوئیچ / سوکروز غیرقابل تخمیر است (به فصل دوم کتاب مراجعه کنید) که با کمپلکس متشکل از پروتئین‌های متصل به RNA داربست Pol V، IND2^۱ و IDP^۲ برهم‌کنش دارد. علائم هیستون فعال توسط هیستون داستیلاز 6، هیستون دمتیلاز JM14 و UNP26 حذف می‌شوند، سپس تغییرات هیستون سرکوب کننده، به عنوان مثال H3K9me توسط SUVH4، SUVH5 و SUVH6 انجام می‌شود. حالت خاموش ممکن است از طریق تغییرات در آرایش سازمان یافته تر کروماتین به واسطه فعالیت MORC1 و MORC6 بیشتر تقویت شود.

^۱. INVOLVED IN DE NOVO2 (IND2)

^۲. IND2 PARALOGUE (IDP)



شکل ۶-۶: معرفی مسیر متعارف متیلاسیون DNA وابسته به RNA شامل پلیمرازهای Pol IV و Pol V ویژه گیاه. سه مرحله ایجاد کروماتین خاموش در جایگاه‌های هدف، عمدتاً عناصر قابل انتقال و تکرارها و همچنین تراژن‌ها، نشان داده شده‌اند. در مرحله اول، RNA مداخله‌گر کوتاه ۲۴ نوکلئوتیدی از طریق فرایند وابسته به Pol IV (سمت چپ) تولید می‌شود. در مرحله دوم، مکان‌های هدف از طریق مکانیسم با واسطه Pol V از نو متیله می‌شوند (وسط) و در مرحله آخر، هتروکروماتین از طریق تغییرات هیستون سرکوب‌کننده، استقرار مجدد نوکلئوزوم و تغییرات در آرایش سازمان‌یافته کروماتین (سمت راست) ایجاد می‌شود. برای جزئیات بیشتر به متن مراجعه کنید (از ماتزک و موشر، ۲۰۱۴).

موتاسیون‌های مؤثر بر ماشین متیلاسیون DNA وابسته به RNA قابل دوام و بارور هستند و معمولاً انحرافات فاحش تکوینی را نشان نمی‌دهند. با این حال، مسیر برای سرکوب ترانسپوزون مهم است؛ بنابراین، به حفظ یکپارچگی ژنوم کمک می‌کند. علاوه بر این، در فرایندهای فیزیولوژیکی و تکوینی مختلف نقش دارد (ماتزک و موشر، ۲۰۱۴)؛ بنابراین، متیلاسیون DNA وابسته به RNA در دفاع علیه باکتری‌ها و ویروس‌ها نقش دارد. علاوه بر این، ممکن است در ایجاد برخی از نشانه‌گذاری‌های گامتی نقش داشته باشد (به فصل پنجم کتاب مراجعه کنید). علاوه بر این، RNAهای کوتاه مداخله‌گر می‌توانند در فواصل کوتاه از سلولی به سلول دیگر و همچنین در فواصل طولانی از طریق سیستم عروقی منتقل شوند و به‌طور بالقوه در ارتباطات بین‌سلولی نقش ایفا کنند. برای مثال فرض شده است که بین سلول‌ها در گامتوفیت ماده و گرده، همچنین ممکن است بین جنین و آندوسپرم رخ دهد، اگرچه شواهد مستقیمی برای انتقال RNAهای مداخله‌گر کوتاه در این بافت‌ها وجود ندارد. در نهایت نشان داده شده‌است که متیلاسیون DNA وابسته به RNA در هیبریدها رخ می‌دهد، جایی که تولید RNAهای کوتاه مداخله‌گر از ژنوم یک والدین می‌تواند جایگاه‌های قبلی غیرمتیله

شده در ژنوم دیگر در ترانس را تحت تأثیر قرار دهد، در صورت وجود شباهت کافی در توالی، چه در مکان‌های آللی یا در مکان‌های دور.

۴-۶- پاراموتاسیون

پاراموتاسیون یک پدیدهٔ اپی‌ژنتیک کلاسیک است که در حال حاضر مشخص شده که متیلاسیون DNA وابسته به RNA را درگیر می‌کند. این پدیده به‌طور همزمان توسط الکساندر برینک و ادوارد کو^۱ در ذرت و همچنین رابرت هاگمن در گوجه فرنگی کشف شد (برینک، ۱۹۵۶؛ کو، جونور، ۱۹۵۹؛ هاگمن، ۱۹۵۸). پاراموتاسیون یک پارادوکس ژنتیکی را توصیف می‌کند که در آن آلل‌های خاصی الگوی جداسازی مورد انتظار مبتنی بر قوانین مندل را نشان نمی‌دهند. کاشفان دریافتند که یک تغییر ژنتیکی یا تبدیل در ترکیبات هتروزیگوت خاصی رخ داده است. به‌عنوان مثال، ادواردکو با آلل‌های جایگاه تقویت‌کننده^۲ ۱^۳ مسئول تجمع رنگدانهٔ آنتوسیانین گیاه کار کرد و اثری را بر رنگ گیاه در ذرت گزارش کرد که به‌عنوان تبدیل قاعده‌مند یک آلل در جایگاه *B* توسط آلل دیگر تفسیر شد [.....]. این اثر از این جهت اثر ادامه‌دار است که *B* تبدیل‌شده که *B'* نامیده می‌شود، همچنین به‌طور منظم قادر است به *B''* تبدیل شود. هنگامی که ادواردکو گیاهان بنفش با رنگ‌دانه شدید هموزیگوت برای آلل تقویت‌کنندهٔ شدید ۱^۳ را با گیاهان سبز با رنگدانهٔ ضعیف هموزیگوت برای آلل *B* تلاقی داد، همهٔ فرزندان دارای رنگدانهٔ ضعیفی بودند. این را می‌توان، در اصل، با غلبهٔ *B* بر *B-I* توضیح داد، اما فرزندان همچنین پس از برون‌زادآوری مکرر با گیاهان *B-I*، رنگدانهٔ ضعیفی داشتند؛ بنابراین، با توجه به این که هیچ جدایی‌ای وجود نداشت، به‌نظر می‌رسد که آلل *B-I* فعالیت خود را به آلل *B* با رنگدانهٔ ضعیف تغییر داده است و *B'* نامیده می‌شود (شکل ۶-۷).

جداسازی غیرمندلی در تلاقی‌های هتروزیگوت‌های *B-I/B* با گیاهان بدون رنگدانهٔ هموزیگوت برای ازدست‌دادن عملکرد آلل *b* تأیید شد. به‌جای جداسازی ۱:۱ مورد انتظار گیاهان *B-I/b* با رنگدانهٔ شدید و گیاهان *B/b* با رنگ‌دانه ضعیف، همه فرزندان دارای رنگدانهٔ ضعیف بودند که این امر تبدیل *B-I* به *B'* را تأیید می‌کند. در این مطالعات اولیه، ادواردکو متوجه شد که آلل *B-I* می‌تواند به‌طور خودبه‌خود آلل *B'* را ایجاد کند. برینک حالت تغییریافتهٔ آلل *R'* جایگاه رنگی ۱^۴ را پیدا کرد که در برخی از فرزندان به حالت اصلی برمیگشت. چنین بی‌ثباتی یا فراپایداری در حال حاضر یک شاخص حالت اپی‌ژنتیک در نظر گرفته می‌شود که پایداری بسیار کمتری از موتاسیون‌های ژنتیکی دارد.

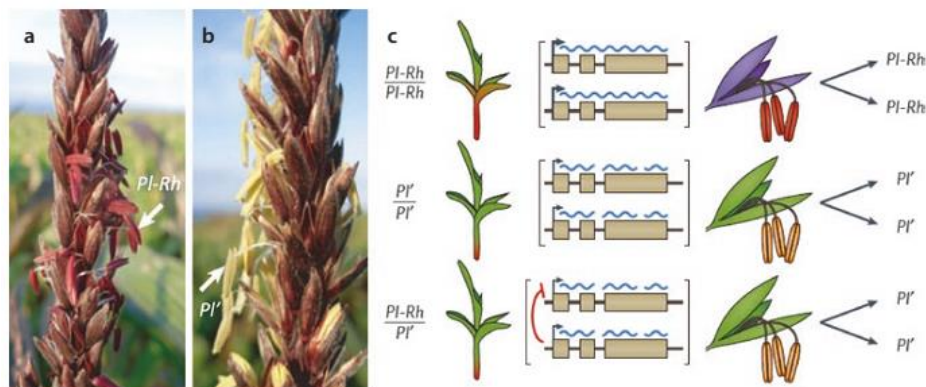
¹ Edward Coe

² *Booster1 (b1)*

³ *Booster1-Intense (B-I)*

⁴ *Coloured1 (r1)*

امروزه تبدیل یک آلل به آلل دیگر به عنوان یک تغییر در کنترل اپی ژنتیک حالت بیان جایگاه شناخته می شود و به آن پاراموتاسیون می گویند. پاراموتاسیون به عنوان یک تغییر جهت دار و ارثی در بیان ژن تعریف می شود که با برهم کنش بین آلل های خاص ایجاد می شود. پاراموتاسیون می تواند بین آلل های ژنتیکی یکسان یا متمایز رخ دهد. اللهایی که باعث ایجاد پاراموتاسیون می شوند، پاراموتازنیک نامیده می شوند، آنهایی که به آن حساس هستند پاراموتاسیون پذیر و آنهایی که در پاراموتاسیون شرکت نمی کنند خنثی هستند. همان طور که ادواردکو توصیف کرد، آلل پاراموتاسیون پذیر تبدیل شده، سپس خودش پاراموتازنیک می شود و می تواند باعث پاراموتاسیون ثانویه شود. این پدیده اپی ژنتیکی جالب، برای چندین مکان درون زاد در گوجه فرنگی و ذرت، از جمله تقویت کننده^۱، رنگی^۲، گیاه بنفش^۱ و رنگ پریکارپ^۲ توصیف شده است که همگی تنظیم کننده های رونویسی بیوسنتز فلاونوئید هستند؛ اما تعداد فزاینده ای از تراژن ها نیز وجود دارد که رفتاری شبیه به پاراموتاسیون در گیاهان و حیوانات، از جمله مگس سرکه و سی الگانس و موش ها نشان می دهند (هولیک، ۲۰۱۷).



شکل ۶-۷: پاراموتاسیون با رفتار ژنتیکی آلل گیاه بنفش ۱ - رودز^۳ مورد نیاز برای تجمع رنگدانه آنتوسیانین گیاه. a. بساک های رنگ دانه های گیاه *Pl-Rh*. b. بساک های بدون رنگدانه گیاه *Pl'* (a,b از هولیک ۲۰۱۷). c. نمایش شماتیک پاراموتاسیون در جایگاه *pl1*. ژنوتیپ های دیپلوئید و رنگ بندی گیاهچه در سمت چپ، رنگ بساک و ژنوتیپ های هاپلوئید گامت های تولید شده در سمت راست نشان داده شده اند. در وسط، رونویسی از جایگاه *pl1* نشان داده است: آلل *Pl-Rh* قویاً بیان شده، آلل *Pl'* بیان شده ضعیف با خطوط موجی شکسته نشان دهنده mRNA های ناپایدار و برهم کنش بین *Pl-Rh* پاراموتازنیک و *Pl-Rh* پاراموتاسیون پذیر (فلش قرمز)، منجر به کاهش بیان *Pl-Rh* و تبدیل به *Pl'* می شود (از هالیک، ۲۰۱۰).

^۱. Purple plant1 (*pl1*)

^۲. Pericarp color1 (*p1*)

^۳. Purple plant1-Rhoades. (*Pl-Rh*)

۶-۴-۱- عناصر تنظیمی سیس کنترل‌کننده پاراموتاسیون و عوامل ترانس-اکتینگ، پاراموتاسیون را به متیلاسیون DNA وابسته به RNA پیوند می‌دهند.

بیشتر سیستم‌های پاراموتاسیون در ذرت فراپایدار هستند و حالت بیان یک آلل می‌تواند به‌طور خودبه‌خود در هر دو جهت در فراوانی‌های تغییرپذیر تغییر کند. با این حال، در جایگاه *b1* آلل‌های B' به‌طور خودبه‌خود از $B-I$ تشکیل می‌شوند، درحالی‌که حالت B' بسیار پایدار است. در غربالگری‌های ژنتیکی، فراپایداری می‌تواند مشکل‌ساز باشد؛ زیرا ممکن است نتایج مثبت کاذب ایجاد کند. پایداری حالت B' یکی از دلایل استفاده از این سیستم در غربالگری‌های ژنتیکی مختلف برای شناسایی نواحی تنظیمی سیس و عوامل ترانس اکتینگ پاراموتاسیون بود.

به‌عنوان مثال، مناطق تنظیمی سیس مورد نیاز برای بیان زیاد $B-I$ با جست‌وجوی نو ترکیب‌هایی که بیان بالا توسط یک آلل خنثی به‌دست می‌آید، مکان‌یابی شدند. به همین ترتیب، عناصر سیس مورد نیاز برای پاراموتاسیون با جداسازی نو ترکیب‌ها که در آن یک آلل خنثی پاراموتازنیک شده بود، شناسایی شدند. نقشه‌برداری از نقاط شکست نو ترکیبی نشان داد که تشدیدکننده برای بیان زیاد *b1* و ناحیه‌ای که واسطه پاراموتاسیون است، همزمان بوده و در حدود ۱۰۰ هزار جفت باز بالادست محل شروع رونویسی *b1* قرار دارند (استام و همکاران، ۲۰۰۲). خصوصیات مولکولی این منطقه نشان داد که از هفت تکرار پشت‌سرهم از یک توالی ۸۵۳ جفت بازی تشکیل شده است که در ژنوم ذرت منحصربه‌فرد است (شکل ۶-۸). این تکرارها در پاراموتازنیک B' و آلل‌های پاراموتاسین‌پذیر $B-I$ یکسان بودند که ماهیت اپی‌ژنتیکی پاراموتاسیون را تأیید می‌کنند.

پاراموتازنیسیته به تعدادی نسخه تکرار موجود در یک آلل مربوط می‌شود. با پنج تکرار، یک آلل هنوز کاملاً پاراموتازنیک است، اما با سه تکرار، پاراموتازنیسیته کاسته می‌شود و آلل‌های خنثی فقط یک تکرار دارند (شکل ۶-۸). یک رابطه بین تعداد تکرارها و پاراموتازنیسیته نیز در جایگاه *r1* مشاهده شد، جایی که آلل‌های پاراموتازنیک $R-st$ ^۱ و $R-mb$ ^۲ هر دو از چند نسخه ناحیه رمزکننده $r1$ توالی‌های مجاور تشکیل شده‌اند، درحالی‌که آلل‌های دارای تنها یک ژن *r1* خنثی هستند. مشتقات حذف یک همبستگی مستقیم بین پاراموتازنیسیته و تعداد ژن‌های *r1* را نشان دادند (هول و همکاران، ۲۰۱۵).

با توجه به اینکه هم $B-I$ و هم B' هفت تکرار یکسان دارند، تفاوت بین آن‌ها باید در حالت اپی‌ژنتیک آن‌ها باشد. در واقع، در چندین مکان، آلل‌های پاراموتاسیون‌پذیر و پاراموتازنیک نشان داده شده‌اند که به‌طور متفاوت متیله شده‌اند (شکل ۶-۸). نکته مهم این است که در پاراموتاسیون، آلل پاراموتاسیون متیلاسیون DNA را به‌دست می‌آورد که این امر دلالت بر نقش متیلاسیون دارد و

^۱. *R-stippled*

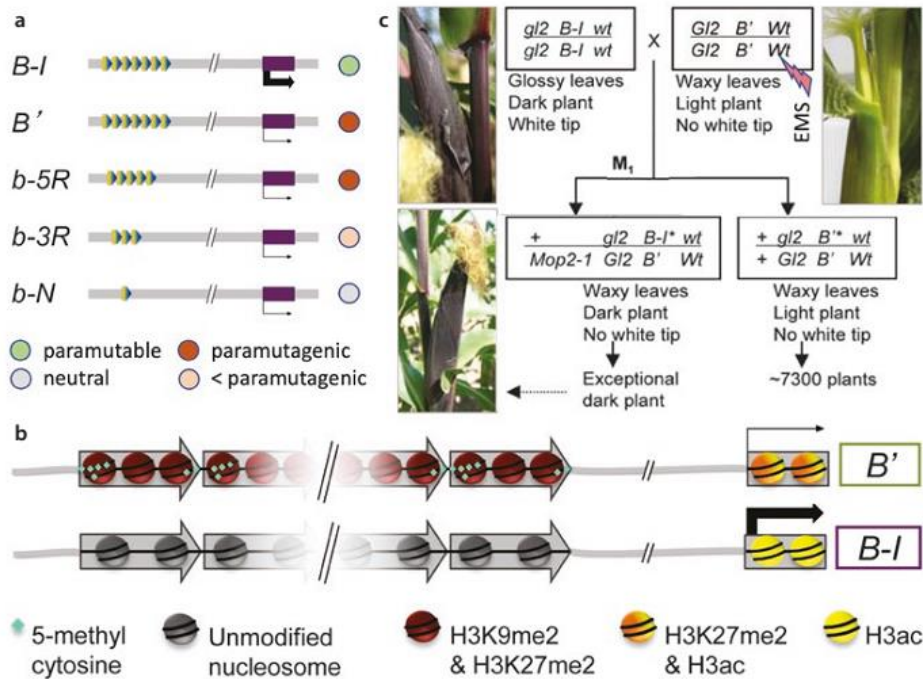
^۲. *R-marbled*

حتی احتمالاً باعث سوئیچ اپی ژنتیکی که برای پاراموتاسیون اساسی است، می شود؛ بنابراین، در طول پاراموتاسیون، نواحی تنظیمی سیس، نقش وساطت برهم کنش های ترانس هومولوگ بین دو آلل را بازی می کنند که منجر به انتقال متیلاسیون DNA می شود. تکرارهای پشت سرهم B' نه تنها در مقایسه با $B-I$ های پرمتیل می شوند، بلکه دارای علائم هیستونی سرکوبگر H3K9me2 و H3K27me3 مشابه ترانسپوزون های خاموش شده نیز هستند (شکل ۶-۸).

با استفاده از ابزارهای ژنتیکی قدرتمند، غربالگری برای موتاسیون های مکان دوم عوامل مورد نیاز برای ایجاد و/ یا حفظ پاراموتاسیون در ذرت انجام شد (هولیک، ۲۰۱۷). در جست و جوی جهش یافته هایی که کاهش میزان تجمع رنگدانه مشاهده شده در گیاهان PI'/PI' و B'/B' را منسوخ می کنند، غربالگری های موازی برای شناسایی جهش یافته های نیازمند به حفظ سرکوب^۱ و به واسطه پاراموتاسیون^۲ انجام شدند (شکل ۶-۸). شبیه سازی مولکولی برخی از این جهش یافته ها، پیوند واضحی با خاموشی ژن توسط متیلاسیون DNA وابسته به RNA فراهم کرد. جایگاه واسطه پاراموتاسیون I یک هومولوگ از RNA پلیمراز ۲ وابسته به RNA را رمزگذاری می کند که برای تولید RNA های کوتاه مداخله گر ۲۴ نوکلئوتیدی وابسته به Pol IV در آرابیدوپسیس مورد نیاز است. علاوه بر این، جایگاه واسطه پاراموتاسیون ۳ / نیازمند حفظ سرکوب ۶ بزرگترین زیرواحد Pol IV و واسطه پاراموتاسیون ۲ / نیازمند به حفظ سرکوب ۷ به عنوان دومین بزرگترین زیرواحد را رمزگذاری می کند که بخشی از هر دو Pol IV و Pol V است و به طور کامل ارتباط بین پاراموتاسیون و متیلاسیون DNA وابسته به RNA را ایجاد می کند. در واقع، همه جهش یافته های واسطه پاراموتاسیون و نیازمند به حفظ سرکوب شناخته شده نه تنها تجمع رنگدانه کاهش یافته را در گیاهان PI'/PI' سرکوب می کنند، بلکه در تجمع RNA مداخله گر کوتاه ۲۴ نوکلئوتیدی متناظر نیز ناکام هستند (هولیک، ۲۰۱۷). با این حال، وضعیت در ذرت پیچیده تر از آرابیدوپسیس است؛ زیرا دو زیرنوع Pol IV و سه زیرگروه Pol V غیرمازاد وجود دارد؛ بنابراین، نقش های خاص اجزای متیلاسیون DNA وابسته به RNA شناسایی شده در ذرت از طریق این غربالگری ها هنوز به خوبی درک نشده است. به طور واضح برخی از ویژگی های منحصر به فرد پاراموتاسیون در مقایسه با خاموشی ترانسپوزون توسط متیلاسیون DNA وابسته به RNA وجود دارد؛ یعنی برهم کنش های ترانس هومولوگ هدایت شده و تغییرات ارثی رخ داده در میوز که مشخصه پاراموتاسیون هستند. پژوهش آینده، شباهت ها و تفاوت های پاراموتاسیون و متیلاسیون DNA وابسته به RNA را بیشتر روشن خواهد کرد.

¹. Required to maintain repression (*rmr*)

². Mediator of paramutation (*mop*)



شکل ۶-۸: ویژگی‌های عناصر سیس مورد نیاز برای پاراموتاسیون در جایگاه *bI* و غربال ژنتیکی برای عوامل ترانس اکتینگ. a. ناحیه تکرار تقریباً ۱۰۰ هزار جفت باز بالادست توالی رمزکننده *bI*. آلل‌های پاراموتازنیک *B-I* و پاراموتاسیون پذیر *B'* هفت تکرار پشت‌سرهم یکسان دارند، درحالی‌که آلل خنثی *b-N* فقط یک تکرار دارد. کاهش به پنج تکرار، پاراموتازنیسیته کامل را حفظ می‌کند، درحالی‌که با سه تکرار، آلل کمتر پاراموتازنیک است. b. ویژگی‌های اپی‌ژنتیکی *B-I* و *B'* که متیلاسیون افتراقی DNA را نشان می‌دهند و علائم هیستونی مجزا در تکرارهای پشت‌سرهم را حمل می‌کنند (تنها چهار تکرار برای سادگی نشان داده شده است (a و b، هول و همکاران، ۲۰۱۵). c. طرح غربال ژنتیکی برای واسطه پاراموتاسیون با استفاده از موتاسیون زای EMS برای ایجاد موتاسیون درگرده. دو لاین والد حامل آلل‌های نوع وحشی یا جهش‌یافته به ترتیب *gl2* و *wt* که در کنار جایگاه *bI* قرار دارند. *B'* نشان‌دهنده یک آلل *B-I* است که در گیاهان نوع وحشی به *B'* پاراموتاسیون پیدا کرده است، *B-I* نشان‌دهنده یک آلل *B-I* است که در حضور واسطه پاراموتاسیون *2-I* در معرض *B'* قرار گرفته است که از پاراموتاسیون جلوگیری می‌کند (از سیدورنکو و همکاران، ۲۰۰۹).

پیام کلی این فصل که باید به خاطر سپرد.

- RNA ها در پدیده‌های اپی ژنتیکی متنوع، نقش کلیدی دارند. اینها شامل RNA های طویل غیررمزکننده در نشانه‌گذاری ژنومی و غیرفعال‌سازی کروموزوم X یا انواع مختلف RNA های کوتاه در مکانیسم‌های خاموشی ژن است.
- خاموشی ژن می‌تواند در سطح رونویسی یا پس از رونویسی رخ دهد، اما هر دو مکانیسم به RNA های کوتاه متکی هستند. این مکانیسم‌ها نقش مهمی در دفاع در برابر ویروس‌ها و همچنین در حفظ یکپارچگی ژنوم ایفا می‌کنند.
- بسیاری از اجزای مکانیسم‌های خاموشی مبتنی بر RNA در حیوانات، گیاهان و قارچ‌ها حفاظت شده هستند. اینها شامل برخی از بازیگران کلیدی مانند اندونوکلیئازهای شبه دایسر مرتبط با RNase III و پروتئین‌های آرگونوات هستند که به RNA های کوچک متصل می‌شوند و mRNA های هدف را برش می‌دهند.
- RNA های کوچک در خاموشی پس از رونویسی، هدف قراردادن mRNA ها برای تخریب یا مهار ترجمه آن‌ها نقش دارند. این مکانیسم همچنین به عنوان مداخله RNA نامیده می‌شود و برای غربالگری‌های مقیاس بزرگ در سلول‌های کشت داده‌شده در تحقیقات بنیادی و کاربردی مفید بوده است.
- خاموش کردن ژن در سطح رونویسی، به عنوان مثال برای سرکوب عناصر قابل انتقال و تکرار، همچنین مبتنی بر RNA های کوچک (RNA های کوتاه مداخله‌گر یا RNA های برهم کنشی Piwi) در طیف گسترده‌ای از جانداران است. در گیاهان این امر با متیلاسیون DNA وابسته به RNA، یک مسیر پیچیده که شامل RNA پلیمرازهای خاص گیاهی Pol IV و Pol V است، به دست می‌آید.
- پاراموتاسیون شامل برهم‌کنش‌های ترانس هومولوگ است که باعث سرکوب ارثی آلل پاراموتاسیون‌پذیر هدایت‌شده توسط آلل پاراموتازن می‌شود. اثرات مشابهی در هیبریدها مشاهده شد که در آن‌ها گردهم‌آوردن (اپی) ژنوم‌های واگرا می‌تواند باعث تغییرات متیلاسیون DNA در ترانس شود.
- پاراموتاسیون متکی بر توالی‌های تنظیمی سپس است که می‌توانند از توالی رمزکننده بسیار دور باشند و متشکل از تکرارها باشند. حالت اپی ژنتیک این تکرارها بین آلل‌های پاراموتازنیک و پاراموتاسیون‌پذیر متفاوت است و توسط مسیر متیلاسیون DNA وابسته به RNA ایجاد و/یا حفظ می‌شود.

منابع

- Bernstein E, Caudy AA, Hammond SM, Hannon GJ (2001) Role for a bidentate ribonuclease in the initiation step of RNA interference. *Nature* 409:363-366, <https://doi.org/10.1038/35053110>.
- Bestor TH, Chandler VL, Feinberg AP (1994) Epigenetic effects in eukaryotic gene expression. *Genesis* 15:458-462. <https://doi.org/10.1002/dvg.1020150603>
- Borges F, Martienssen R (2015) The expanding world of small RNAs in plants. *Nat Rev Mol Cell Biol* 16:727-741. <https://doi.org/10.1038/nrm4085>
- Brink RA (1956) A genetic change associated with the R locus in maize which is directed and potentially reversible. *Genetics* 41:872-889. PMID: 17247669 Created using Matnyaar - <https://matnyaar.ir>
- Coe EH Jr (1959) A regular and continuing conversion-type phenomenon at the B locus in maize. *Proc Natl Acad Sci USA* 45:828-832. <https://doi.org/10.1073/pnas.45.6.828>
- Ernst C, Odom DT, Kutter C (2017) The emergence of piRNAs against transposon invasion to preserve mammalian genome integrity. *Nat Commun* 8:1411. <https://doi.org/10.1038/s41467-017-01049-7>
- Fire A, Xu S, Montgomery MK, Kostas SA, Driver SE, Mello CC (1998) Potent and specific genetic interference by double-stranded RNA in *Caenorhabditis elegans*. *Nature* 391:806-811. <https://doi.org/10.1038/35888>
- Gonsalves D, Gonsalves C, Ferreira S, Pitz K, Fitch M, Manshardt R, Slightom J (2004) Transgenic virus resistant papaya: from hope to reality for controlling papaya ringspot virus in Hawaii. APSnet Feature Story July 2004. <https://pdfs.semanticscholar.org/6db3/b62d618348fc780c4b5a3a8f-293da309e52c.pdf?ga=2.17733369.1394956602.1601814746-498759226.1601380287>.
- Gottula J, Fuchs M (2009) Toward a quarter century of pathogen-derived resistance and practical approaches to plant virus disease control. *Adv Virus Res* 75:161-183. [https://doi.org/10.1016/S0065-3527\(09\)07505-8](https://doi.org/10.1016/S0065-3527(09)07505-8).
- Guo S, Kemphues KJ (1995) par-1, a gene required for establishing polarity in *C. elegans* embryos, encodes a putative Ser/Thr kinase that is asymmetrically distributed. *Cell* 81:611-620. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(95\)90082-9](https://doi.org/10.1016/0092-8674(95)90082-9).
- Hagemann R (1958) Somatische Konversion bei *Lycopersicon esculentum* Mill. *Z Vererbungslehre* 89:587-613. PMID: 1360483.
- Hamilton AJ, Baulcombe DC (1999) A species of small antisense RNA in posttranscriptional gene silencing in plants. *Science* 286:950-952. <https://doi.org/10.1126/science.286.5441.950>.
- Hokaiwado N, Takeshita F, Banas A, Ochiya T (2008) RNAi-based drug discovery and its application to therapeutics. *IDrugs* 11:274-278. PMID: 18379962.
- Hollick JB (2010) Paramutation and development. *Annu Rev Cell Dev Biol* 26:557-579. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.042308.113400>.
- Hollick J (2017) Paramutation and related phenomena in diverse species. *Nat Rev Genet* 18:5-23, <https://doi.org/10.1038/nrg.2016.115>.
- Hövel I, Pearson NA, Stam M (2015) Cis-acting determinants of paramutation. *Sem Cell Dev Biol* 44:22-32. <https://doi.org/10.1016/j.semodb.2015.08.012>.

- Hutvagner G, Simard MJ (2008) Argonaute proteins: key players in RNA silencing. *Nat Rev Mol Cell Biol* 9:22-32. <https://doi.org/10.1038/nrm2321>.
- Jiang L, Wei C, Li Y (2012) Viral suppression of RNA silencing. *Sci China Life Sci* 55:109–118. <https://doi.org/10.1007/s11427-012-4279-x>.
- Johanson TM, Lew AM, Chong MMW (2013) MicroRNA-independent roles of the RNase III enzymes Droscha and Dicer. *Open Biol* 3:130144. <https://doi.org/10.1098/rsob.130144>.
- Martienssen R, Moazed D (2015) RNAi and heterochromatin assembly. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 7:a019323. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019323>
- Matzke MA, Mosher RA (2014) RNA-directed DNA methylation: an epigenetic pathway of increasing complexity. *Nat Rev Genet* 15:394-408. <https://doi.org/10.1038/nrg3683>.
- Matzke MA, Primig M, Trnovsky J, Matzke AJM (1989) Reversible methylation and inactivation of marker genes in sequentially transformed tobacco plants. *EMBO J* 8:643-649. PMID: 16453872.
- Mette MF, Aufsatz W, van der Winden J, Matzke MA, Matzke AJ (2000) Transcriptional silencing and promoter methylation triggered by double-stranded RNA. *EMBO J* 19:5194-5201. <https://doi.org/10.1093/emboj/19.19.5194>.
- Napoli C, Lemieux C, Jorgensen R (1990) Introduction of a chimeric chalcone synthase gene into petunia results in reversible co-suppression of homologous genes in trans. *Plant Cell* 2:279–289. <https://doi.org/10.2307/3869076>.
- Pikaard CS, Mittelsten Scheid O (2014) Epigenetic regulation in plants, *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6:a019315. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a019315>.
- Romano N, Macino G (1992) Quelling: transient inactivation of gene expression in *Neurospora crassa* by transformation with homologous sequences. *Mol Microbiol* 6:3343-3353. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2958.1992.tb02202.x>.
- Sen GL, Blau HM (2006) A brief history of RNAi: the silence of the genes. *FASEB J* 20:1293-1299, <https://doi.org/10.1096/j.06-6014rev>.
- Sidorenko L, Dorweiler JE, Cigan AM, Arteaga-Vazquez M, Vyas M et al (2009) A dominant mutation in mediator of paramutation?, one of three second-largest subunits of a plant-specific RNA poly- Created using Matnyaar - <https://matnyaar.ir>.

- Merase, disrupts multiple siRNA silencing processes. PLoS Genet 5(11)1000725. <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1000725>.
- Song JJ, Smith SK, Hannon GJ, Joshua-Tor L (2004) Crystal structure of Argonaute and its implications for RISC slicer activity. Science 305:1434-1437. <https://doi.org/10.1126/science.1102514>.
- Stam M, Mol JNM, Kooter JM (1997) The silence of genes in transgenic plants. Ann Bot 79:3-12. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0295>.
- Stam M, Belele C, Dorweiler JE, Chandler VL (2002) Differential chromatin structure within a tandem array 100 kb upstream of the maize bf locus is associated with paramutation. Genes 16:1906-1918. <https://doi.org/10.1101/gad.1006702>.
- Wassenegger M, Heimes S, Riedel L, Sanger HL (1994) RNA-directed de novo methylation of genomic sequences in plants. Cell 76:567-576. [https://doi.org/10.1016/0092-8674\(94\)90119-8](https://doi.org/10.1016/0092-8674(94)90119-8).
- Wei K, Wu L, Chen Y, Wang Y, Liu Y, Xie D (2013) Argonaute protein as a linker to command center of physiological processes. Chin J Cancer Res 25:430-441. <https://doi.org/10.3978/j.issn.1000-9604.2013.08.13>.
- Created using Matnyaar - <https://matnyaar.ir>.

فصل هفتم

باززایی و برنامه‌ریزی مجدد

مطالبی که در این فصل یاد خواهید گرفت.

در طی فرایندهای باززاینده، سلول‌ها نیاز دارند تا بخش‌هایی از اندام و بافت آسیب‌دیده یا فرسوده را تجدید سازمان کنند. در این فصل شما با استراتژی‌هایی آشنا خواهید شد که جانداران توسعه دادند تا مواد مورد نیاز برای ترمیم بافت و اندام فراهم کنند. از یک طرف، سلول‌های سوماتیک می‌توانند تمایزدایی شوند تا پتانسیل تکوینی خود را افزایش دهند و شکل‌پذیری لازم برای جایگزینی کامل پیچیدگی سلولی یک بخش آسیب‌دیده را ایجاد کنند. از سوی دیگر، جانداران سلول‌های بنیادی خاص اندام با قدرت تکوینی محدود شده را حفظ می‌کنند و از آن‌ها به‌عنوان بخش‌های یدکی برای جایگزینی سلول‌های آسیب‌دیده استفاده می‌کنند. در همه موارد، برنامه‌ریزی مجدد اساسی اپی ژنوم این سلول‌ها با فرایندهای تجدیدسازمان همراه است. استراتژی‌های *in vitro* برای بازگرداندن سلول‌ها به حالت پرتوان توسعه داده شده‌اند که این امر درک بهتر تنظیمات اساسی را ممکن می‌کند و منبعی غنی برای درمان‌های سلولی فراهم می‌کند.

۷-۱- انواع پدیده‌های باززاینده

مکانیسم‌های اپی ژنتیکی عمدتاً فرایندهای طولانی‌مدت مانند حفظ الگوهای بیان ژن، سرکوب کروموزوم X مادری یا پدری در دودمان سلولی، حفظ حافظه سلولی در طول زمان تکوین، یا خاموش کردن شدید بخش‌هایی از ژنوم دارای ترانسپوزون در طول زندگی یک سلول و اجداد آن را حفظ می‌کند. بسیاری از این مکانیسم‌ها تکامل پیدا کرده‌اند تا به‌طور استثنایی پایدار باشند و گاهی اوقات به پایداری سیستم ژنتیکی نزدیک می‌شوند. با این حال، جانداران نیز با محیط‌های متغیر و الزامات فیزیولوژیکی سازگار می‌شوند و بنابراین، باید برخی از این تعهدات اپی ژنتیکی بلندمدت را تعدیل یا معکوس کنند. یک مثال برجسته مورد نیاز تجدیدسازمان چشم‌انداز اپی ژنومیک، فرایند باززایی است. بخش‌هایی از بدن، بافت‌ها یا اندام‌های آسیب‌دیده بدن می‌تواند به‌درستی ترمیم شود و به بقای جاندار بالغ کمک کند. در بزرگسالان، تکوین کامل شده است و انواع سلول و آناتومی بافت‌ها در اندام‌ها با حداقل تغییرات حفظ می‌شوند. علاوه‌براین، روند پیری منجر به تخریب عملکرد بافت می‌شود. از این رو، استراتژی‌های جدید برای تهیه مواد لازم برای فرایند ترمیم تکامل پیدا کرده‌است. بدن می‌تواند مخزنی از سلول‌های بنیادی را حمل کند، سلول‌های بنیادی از طریق تمایز سلولی، با اجرای مجدد آبشارهای تکوینی، ساختارها و اعمال ضروری را به‌دست می‌آورند و جایگزینی قطعات انجام می‌شود. از طرف دیگر، سلول‌های تمایز یافته در همسایگی می‌توانند هویت خود را تغییر دهند و ساختارهای مورفولوژیکی و اعمال فیزیولوژیکی مورد نیاز برای جایگزینی قطعات آسیب‌دیده را به‌دست آورند. در اندام‌های با پیچیدگی کم، افزایش بیش از حد اجزای تشکیل‌دهنده ساختاری و عملکردی اغلب می‌تواند شکاف‌های باقی‌مانده از آسیب را پر کند. این فصل به موانعی می‌پردازد که فرایندهای

باززاینده در هنگام رمزگذاری اپی‌ژنتیکی با آن روبه‌رو هستند؛ در فرایندهای باززاینده حالت‌های پایدار باید تغییر داده‌شود و برنامه‌ریزی مجدد شود.

درحالی‌که گیاهان دارای ظرفیت‌های خارق‌العاده باززاینده هستند و انبوه فراوانی از متون وجود دارد که فرایندهای اساسی اپی‌ژنتیکی را توصیف می‌کنند (ایکوچی و همکاران، ۲۰۱۹)، در این فصل روی مکانیسم‌های باززاینده حیوانات تمرکز خواهیم کرد (تناکا و ردن، ۲۰۱۱؛ کارلسون، ۲۰۰۵). پدیده‌های مختلفی درشاخه‌های جانوری مشاهده شده است، مانند مورفالاکسی^۱ در پلانتاریا^۲ (نوعی کرم) یا هیدرا که به ظرفیت‌های ترمیم مشاهده‌شده در دنیای گیاهان نزدیک می‌شود. قطعات بافت توانایی بازسازی جاندار کامل یا اندام عملکردی را حفظ می‌کنند. به‌طور کلی رشد جبرانی، اندازه یک اندام را با افزایش اندازه سلول (هیپرتروفی جبرانی) یا با تسریع تقسیم سلولی (هیپرپلازی جبرانی) بازایی می‌کند. محدوده استفاده از مجموعه سلول‌های تمایز یافته موجود، چنین فرایندهای تنظیمی را می‌توان پس از آسیب به تعدادی از اندام‌های انسان مانند کبد یا کلیه مشاهده کرد. باززایی فیزیولوژیکی، جایگزینی مداوم سلول‌ها یا قسمت‌های بدن آسیب‌دیده یا پیر را توصیف می‌کند. در انسان، فرایند جایگزینی سلول‌های خونی، تجدید پوشش روده یا سطح پوست، نمونه‌هایی از این شکل هموستازی بافتی هستند.

۷-۱-۱- باززایی از بلاستما^۳

باززایی ترمیمی نمایانگر دیدنی‌ترین شکل بازسازی است که در حیوانات عالی‌تر مشاهده می‌شود. قابلیت رشد مجدد کل ساختار اندام پس از قطع عضو، همان‌طور که در نیوت‌ها^۴ مشاهده می‌شود، مطمئناً فرایند قابل توجهی است که توسط ما انسان‌ها به دیده حسادت نگریسته می‌شود. جای تعجب نیست که این فرایندهای ترمیمی به‌مدت چندین دهه توسط دانشمندان در تعدادی از جانداران مدل مانند دوزیستان آکسولوتل‌ها^۵ یا نیوت‌ها مطالعه شده است. روند ترمیم و باززایی پس از قطع عضو می‌تواند در مجموعه رویدادهای کلیدی زیر توصیف شود (کارلسون، ۲۰۰۵):

۱- بهبود زخم: مهاجرت اپیدرمی برای پوشاندن سطح قطع عضو و جلوگیری از عفونت توسط عوامل بیماری‌زا.

^۱. Morphallaxi باززایی بافت خاص در جانداران مختلف به دلیل از بین رفتن یا مرگ بافت موجود

^۲. Planaria

^۳. Blastema توده‌ای از سلول‌های تمایز نیافته که قادر به رشد و تمایز هستند

^۴. Newts.

^۵. جالب اینجاست که اکسولوتل زمانی که از نظر هورمونی مجبور می‌شود. به شکل بزرگسالان تکوین پیدا کند، توانایی باززاینده خود را از دست می‌دهد. این یک مورد جالب است که چگونه توانایی باززاینده ظاهراً همراه با توقف تکوین انتخاب شده است. این امر ممکن است به دیدگاه اجرای مجدد برنامه‌های تکوینی تا حد محدودی برای اهداف باززاینده کمک کند.

۲- تخریب و فاگوسیتوز: پاسخ التهابی و حذف آنزیمی اجزای ماتریکس، دقیقاً در زیر اپیتلیوم زخم.

۳- تمایززدایی: از بین رفتن انواع بافت تمایز یافته در زیر اپیتلیوم زخم و ظاهر شدن سلول های جنینی (تمایززدایی شده) در همان ناحیه.

۴- تشکیل بلاستما: تجمع سلول های تمایززدایی شده به ساختاری که یادآور ساختار عضو جنینی است.

۵- مورفوژنز و رشد: رشد بلاستما و شکل دهی و تمایز سلول های بلاستمایی به سلول ها و بافت هایی که شامل عضو طبیعی هستند. در زائده های بزرگ تر، پس از اینکه مورفوژنز کامل می شود، رشد باززایی مینیاتوری ادامه پیدا می کند تا به اندازه ساختار اصلی عضو از بین رفته برسد.

اصل فرایند، تشکیل بلاستما حاوی سلول های اجدادی برای رشد مجدد زائده کامل (باززایی اپی مورفیک) است. سلول های تشکیل دهنده بلاستما از بافت های اطراف زخم نشأت می گیرند. با وجود شباهت مورفولوژی سلول های جنینی با سلول های پیش ساز، به نظر می رسد سلول های پیش ساز کاملاً به حالت پرتوان تمایززدایی نشوند (به زیر مراجعه کنید) اما شرایط چندتوان مورد نیاز برای بازسازی اندام یا بافت ساکن را به دست می آورند. آزمایش های ردیابی دودمان در آکسولوتل نشان می دهد که سلول های بلاستما محدودیت های تکوینی خاصی را حفظ می کنند و فقط پتانسیل تمایز محدودی دارند (تاناکا و ردین، ۲۰۱۱). با ردیابی سلول ها از هر بافت اصلی طی باززایی عضو آکسولوتل، سلول های پوستی توانایی تشکیل غضروف ها و تاندون ها را دارند، اما هرگز سرنوشت لایه های زایای جنینی را تغییر ندادند. سایر سلول های بلاستما مشتق شده از سلول های اپیدرمی، ماهیچه ها، سلول های شوان و سلول های غضروفی، هویت بافت اصلی خود را در طی باززایی حفظ کردند. از این رو، به نظر می رسد یک تمایززدایی نسبتاً محدود و تغییر در سرنوشت در بلاستما رخ می دهد.

۷-۱-۲- تغییر توان با ترا تمایز^۱

سایر فرایندهای باززایی که تشکیل بلاستما را حذف می‌کنند، اما همچنان از مراحل تمایززدایی جزئی استفاده می‌کنند، مشاهده شده‌اند. به‌عنوان مثال، قلب گورخرماهی می‌تواند پس از قطع شدن تا ۲۰ درصد بطن، باززایی شود. طی این فرایند، سلول‌های تازه تشکیل‌شده عضله قلب از تمایززدایی و تکثیر کاردیومیوسیت‌های ازپیش‌موجود مشتق می‌شوند. تمایززدایی باعث تکثیر و فعال‌سازی ژن‌های قلب‌ساز جنینی می‌شود. برعکس، کاهش بیان اجزای سارکومریک منجر به عدم سرهم‌بندی ساختارهای سارکومر می‌شود (باررو و ایزپیسوآ بلمونته، ۲۰۱۱).

در موارد دیگر، تغییر کامل در سرنوشت سلولی توصیف شده که به آن ترانتمایز گفته می‌شود. سلول‌های α تولیدکننده گلوکاگون پس از تخریب سلول‌های β با سم دیفتری، به سلول‌های β تولیدکننده انسولین پانکراس می‌توانند تبدیل شوند. به‌نظر می‌رسد این فرایند تبدیل مستقیم باشد که بدون دخالت حدواسط‌های^۲ تمایزنیافته است. ترانتمایز می‌تواند از طریق حدواسط تمایزنیافته نیز رخ دهد همان‌طور که طی باززایی لنز چشم در نیوت‌ها مشاهده می‌شود. باززایی لنز از طریق ترانتمایز سلول‌های اپیتلیال رنگی^۳ عنیبیه اتفاق می‌افتد. پس از برداشتن لنزها، سلول‌های اپیتلیال رنگی دوباره وارد چرخه سلولی می‌شوند، تمایززدایی می‌کنند و تجمع رنگ‌دانه خاص خود را از دست می‌دهند. طی این مرحله اولیه، بیان تنظیم‌کننده‌های تکوینی، مانند عوامل رونویسی Pax6 و Sox2، فعال می‌شود. سپس، سلول‌های اپیتلیال رنگی در حال تکثیر تمایززدایی شده، بیان کریستالین‌ها را آغاز و به رشته‌های عدسی تمایز پیدا می‌کنند.

در مجموع، این نتایج نشان می‌دهد که فرایند تمایززدایی و ترانتمایز طی باززایی شامل خاموشی ژن‌های خاص بافت و همچنین القای ژن‌های دخیل در برنامه‌های جنینی و کنترل چرخه سلولی باشد. این تغییرات در بیان ژن ممکن است اکتساب پلاستی سیتی گسترش‌یافته محدود را تسهیل کند که به سلول‌ها اجازه می‌دهد با تکرار محدود مسیرهای تکوینی، تکثیر شوند و در ساختارهای جدید بازآرایی شوند. به‌طور بالقوه، ژن‌های جنینی که در باززایی نقش دارند ممکن است برای فعال‌سازی در حیوانات در حال باززایی آماده‌باش باقی بمانند، اما در حیوانات غیرباززایی‌کننده به‌طور غیرقابل برگشت خاموش شوند. سؤالات باقی‌مانده عبارت‌اند از: چه مکانیسم‌های پیام‌دهی باعث این تغییر در توانمندی می‌شوند و چه مکانیسم‌هایی سلول‌ها را برای تولید یک اندام کامل، دوباره به‌عنوان الگو قرار می‌دهد؟

^۱ Transdifferentiation

^۲ همچنین در طی رشد طبیعی، سلول‌های α و β از یک پیش‌ساز اولیه دو پتانسیل مشتق می‌شوند. پتانسیل پیش‌ساز اولیه برای ساخت α بعداً در زمان تکوین به سلول‌های β تغییر می‌کند.

^۳ Pigmented epithelial cells (PECs)

۷-۱-۳- پیام‌دهی در بلاستما

علی‌رغم علاقه قابل توجه به درک مکانیسم‌های اساسی تنظیم‌کنندگی ظرفیت باززاینده، در بسیاری از جانداران مدل کلاسیک مطالعه مکانیسم‌های اساسی مولکولی دشوار بوده است. برعکس، مگس سرکه مزیت‌های قابل توجهی برای مطالعات باززاینده ارائه می‌دهد؛ زیرا پیچیدگی آن کمتر از دوزیستان و انسان است و در ضمن طیف وسیعی از ابزارهای تحقیقاتی در دسترس است. مگس سرکه، بر خلاف برخی دیگر از بندپایان، قادر به باززایی پاها یا بال‌های آسیب‌دیده در بزرگسالان نیست. با این حال، لاروها دارای توانایی‌های باززایی در صفحات انگاشتی^۱ هستند (همچنین به فصل سوم کتاب مراجعه کنید). صفحات انگاشتی حتی پس از ضایعه عظیم سلول‌های صفحه که با تابش اشعه ایکس در مراحل لاروی یا با القای موضعی مرگ سلولی ایجاد می‌شود، می‌توانند باززایی شوند و زائده‌های بالغ طبیعی را تشکیل دهند (هارپهاران و سراس، ۲۰۱۷؛ احمد-د-پرادو و باونزا، ۲۰۱۸). باززایی صفحات انگاشتی نیز در شرایط *ex vivo* مشاهده می‌شود (شکل ۷-۱). هنگامی که صفحات انگاشتی به صورت دستی تکه‌تکه می‌شوند، پیوند می‌شوند و در شکم مگس بالغ کشت می‌شوند، سلول‌های صفحه در محل زخم، قسمت‌های ازدست‌رفته را باززایی می‌کنند. به یاد داشته باشید که سلول‌های صفحه انگاشتی از سلول‌هایی که به‌طور ویژه قبلاً تعیین شده اما تمایز نیافته تشکیل شده‌اند، بنابراین آن‌ها سلول‌های یکنواختی نیستند. هر صفحه انگاشتی که طی جنین‌زایی ایجاد می‌شود، مسیر تکوینی خاصی را دنبال می‌کند. هویت‌های منطقه‌ای و سرنوشت‌های سلول خاص در هر صفحه دقیقاً به صورت مرحله‌ای در سراسر مرحله لاروی تعیین می‌شود. در زمان آسیب، بیان ژن‌های تنظیم‌کننده اصلی، الگوی تکوینی پیچیده‌ای را نشان می‌دهد. فرایند باززایی صفحات انگاشتی تکه‌تکه شده، در اصل مشابه مراحل باززایی عضو دوزیستان است که شامل بهبود زخم (بستن)، تکثیر سلولی موضعی (تشکیل بلاستما باززایی) و تشکیل الگو است. در مجموع، مشاهدات نشان می‌دهد که باززایی صفحه، برنامه‌ریزی مجدد سلولی محدود را القا می‌کند و بازسازی بافت ازدست‌رفته را درحالی که هویت صفحه مستقل از محیط محلی حفظ می‌شود، امکان‌پذیر می‌سازد. مطالعات پیوند صفحه انگاشتی، فرایند ترانعیین^۲ را آشکار کرده است، به عنوان مثال، گروه‌های همسایه سلول‌ها در بلاستمای باززایی گاهی انعطاف‌پذیرتر می‌شوند و هویت‌های اندام جایگزین را از صفحات انگاشتی مختلف به دست می‌آورند (قابل مقایسه با ترانعیین؛ به فصل سوم کتاب مراجعه کنید). این امر نشان می‌دهد که مکانیسم حافظه سلولی باید طی فرایند باززاینده تغییر کند و دوباره برنامه‌ریزی شود. در واقع، باززایی صفحه و ترانعیین با تنظیم عملکرد گروه پلی‌کومب جفت می‌شود. فروتنظیم عملکرد گروه پلی‌کومب، همان‌طور که توسط مهار یک ژن گزارشگر تنظیم‌شده گروه پلی

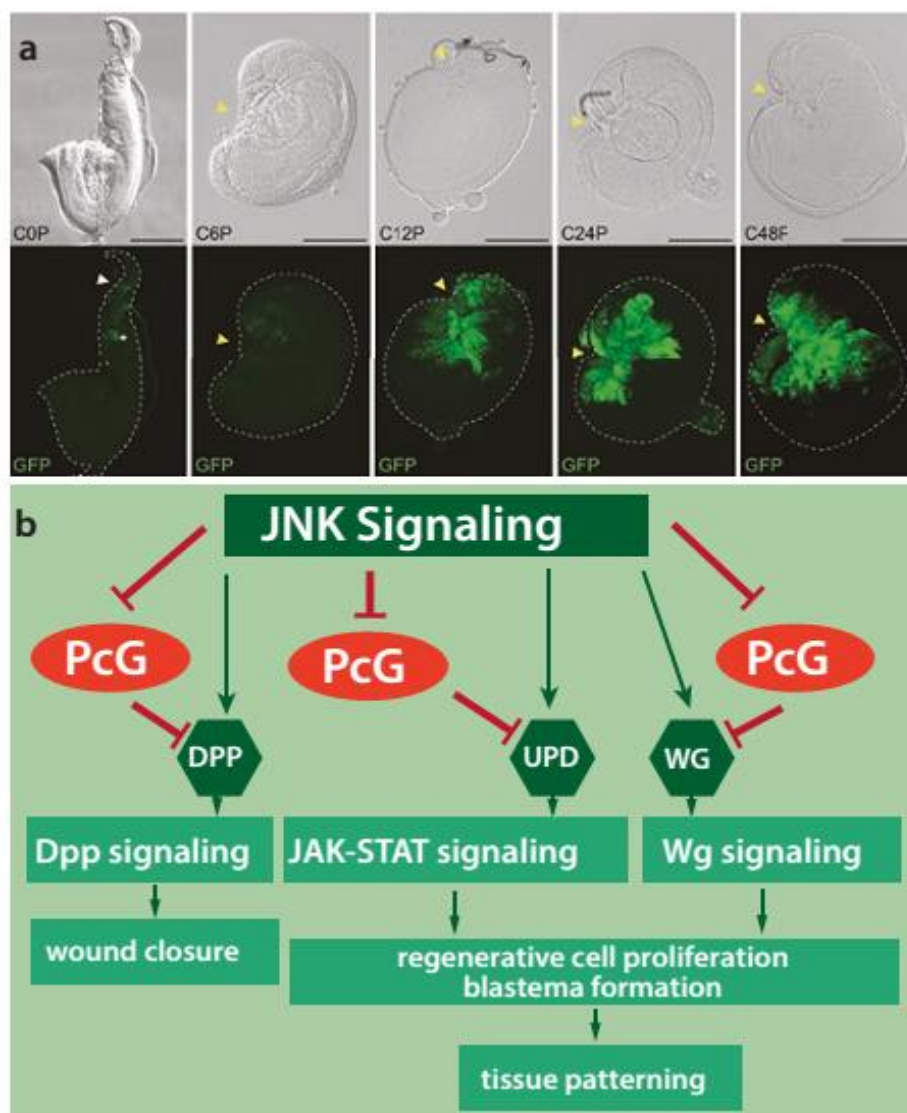
^۱. Imaginal discs

^۲. Transdetermination

کومب خاموش کنترل می‌شود، در سلول‌های در حال تکثیر و باززایی بلاستما مشاهده شد (لی و همکاران، ۲۰۰۵). علاوه بر این، تنها سلول‌هایی با عملکرد گروه پلی‌کومب آسیب‌دیده یافت شد که بیشتر ترانعیین می‌شوند، این امر نشان می‌دهد که تعدیل گروه پلی‌کومب پیش‌نیاز برنامه‌ریزی مجدد سلولی است.

بهبود در محل زخم شامل فعال‌سازی مسیر پیام‌دهی JNK^۱ در چندین ردیف سلول در حاشیه زخم است (شکل ۷-۱). سلول‌های بلاستما از سلول‌هایی مشتق می‌شوند که در آن‌ها JNK فعال شده است. مشخص شد که مسیر پیام‌دهی JNK مستقیماً فروتنظیم خاموشی گروه پلی‌کومب را کنترل می‌کند (لی و همکاران، ۲۰۰۵). فعال‌سازی کلونال مسیر JNK در صفحات انگاشتی برای کاهش عملکرد خاموشی با واسطه گروه پلی‌کومب کافی بود، همان‌طور که با بیان نابه‌جای ژن *Hox* (هدف سیستم گروه پلی‌کومب) این رخداد می‌تواند آشکار شود. از این رو، فروتنظیم خاموشی گروه پلی‌کومب توسط پیام‌دهی JNK به نظر می‌رسد منجر به فعال‌سازی مجدد ژن‌های هدف گروه پلی‌کومب خاص، اما نه فراگیر می‌شود. به نظر می‌رسد این‌ها به حالت آماده سوق داده می‌شوند و تنها پس از فعال‌سازی توسط عوامل رونویسی خاص بافت، سلول‌ها به سمت حالت تمایز یافته مورد نیاز هدایت می‌شوند (بیرا و همکاران، ۲۰۱۸).

^۱. Jun N-termina. kinase (JNK)



شکل ۷-۱: پیام‌دهی در بلاستمای صفحه انگاشتی در حال باززایی. **a** صفحه انگاشتی پا که از لارو مرحله سوم در ۱۰۰ ساعت پس از تخم‌گذاری جدا شد، زخمی شد و در شکم بالغ کشت شد (*ex vivo*). فعال‌سازی پیام‌دهی JNK در سلول‌ها که با برچسب‌زدن پیوسته گزارشگر GFP (پاتل پایین) در بلاستما در زمان‌های مختلف پس از زخم‌کردن نشان داده شده است: صفر ساعت (C0P) (بدون کشت)، ۶ ساعت (C6P)، ۱۲ ساعت (C12P)، ۲۴ ساعت (C24P) و ۴۸ ساعت (C48P) کشت‌دادن. نوک پیکان‌های زرد نشان‌دهنده موقعیت‌های تکه‌تکه شده است. نوار مقیاس = ۱۰۰ میکرومتر. پیام‌دهی Dpp باعث بسته‌شدن زخم می‌شود. عمل هماهنگ پیام‌دهی JAK-STAT و Wg تکثیر سلول و الگوپردازی دوباره بافت در بلاستما را القا می‌کند.

یک یافته مهم نشان می‌دهد که در فرایندهای باززاینده اپی‌مورفیک مشاهده شده در بسیاری از حیوانات، تشکیل بلاستما منبع اولیه سلول‌های مورد استفاده برای الگوبرداری مجدد را فراهم می‌کند. با این حال، درحالی که حالت تمایز خود را به حالت چندتوان تغییر می‌دهند، ولی سلول‌های بلاستما هرگز یک ظرفیت کاملاً پرتوان را به دست نمی‌آورند. برخلاف بیان اگزوژنوس عوامل برنامه‌ریزی مجدد برای القای سلول‌های بنیادی پرتوان (به زیر مراجعه کنید)، پیام‌های باززایی طبیعی می‌توانند حالت کروماتین سلول‌های بلاستما را به حالت‌های اجدادی محدودتر دودمان، برنامه‌ریزی مجدد کنند و مشکل تنظیم‌زدایی تومورزایی را که اغلب در سلول‌های پرتوان مشاهده می‌شود، دور بزنند.

۷-۲- سلول‌های بنیادی در بزرگسال

یک مفهوم متفاوت برای تأمین سلول‌ها برای بخش‌های در حال باززایی، سلول‌های بنیادی هستند. طبق تعریف، تقسیم یک سلول بنیادی یک سلول بنیادی دیگر و همچنین یک پیش‌ساز دودمان خاص را تولید می‌کند. از این رو، از یک طرف، در دسترس بودن ثابت خزانه سلول‌های بنیادی تضمین می‌شود. از طرف دیگر، سلول بنیادی باید پتانسیل تکوینی خود را حفظ کند تا تمام انواع سلول‌های دودمان (ها) را که مشارکت دارند، تولید کند. در پستانداران در مرحله اولیه بلاستوسیست، سلول‌های اپی بلاست توده سلولی داخلی، در کشت می‌تواند نگهداری شود. زمانی که آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی تحت یک برنامه تمایز قرار می‌گیرند یا به مرحله تکوینی مربوطه جاندار پیوند زده می‌شوند، ظرفیت تکوین و کمک به انواع سلول‌های هر سه لایه زایا را دارند. به این ترتیب، آن‌ها پرتوان هستند؛ زیرا پتانسیل تکوین به هر بخش از جاندار را دارند، به جز بافت خارج جنینی که جفت را ایجاد می‌کند. برعکس، جانداران بالغ، خزانه‌های از سلول‌های بنیادی با ظرفیت تکوینی محدودتر (چندتوان) را حفظ می‌کنند.

در این جا، نمونه کلاسیک، سلول‌های بنیادی خونساز هستند. ماهیت مایع سیستم خونی امکان مطالعه انواع مختلف سلول و شجره نامه آن‌ها را با جزئیات بیشتر، فراهم می‌کند. منبع اصلی، سلول‌های بنیادی خونساز چند پتانسیل در مغز استخوان است. این واقعیت که می‌توانیم از سلول‌های بنیادی خونساز طبیعی برای بازسازی سیستم کامل خون در یک بیمار مبتلا به لوسمی که با سلول‌های خونی سرطانی زمین‌گیر شده است استفاده کنیم، نشانه روشنی است که بدن ما خزانه‌های سلول‌ها را با ظرفیت‌های باززاینده بسیار ویژه حمل می‌کند. آیا این حالت برای هر اندامی صادق است؟ جست‌وجوی یافتن پاسخی برای این پرسش نسل‌هایی از دانشمندان را به خود مشغول کرده است. به دلیل تعداد ظاهراً محدود سلول و مشکل جداسازی و کشت آن‌ها، شناسایی نشانگرهای مولکولی مشخص برای سلول‌های بنیادی بالغ، مدت‌های طولانی چالش برانگیز بوده است. به‌طور خاص، با بررسی اندام‌هایی با تغییر و تبدیل سلولی زیاد مانند پوست یا روده که به‌عنوان مثال

در اثر فشار مکانیکی یا شیمیایی ایجاد می‌شود، منبع متناظر سلول‌های بنیادی بالغ می‌توانست مشخص شود و مسیر تمایز فرزندان آن‌ها مطالعه شود. اپیتلیوم روده‌ای در پایه تورفتگی‌های کوچک (کریپت) که دربرگیرنده مهد (محل ایجاد و یا تکوین) سلول‌های بنیادی است، تشکیل می‌شود (بیان کننده نشانگر Lgr5)^۱ (تته و همکاران، ۲۰۱۵). اجداد سلول‌های بنیادی که از محل تولد یا تکوین خود خارج می‌شوند، در معرض آبهارهای پیام‌دهی پیچیده قرار می‌گیرند و در طول مسیرشان به سمت پرز (سطح روده که در معرض داخل معده است) تمایز را آغاز می‌کنند. سلول‌های بیان کننده Lgr5 را می‌توان در شرایط آزمایشگاهی کشت داد. در نهایت، آن‌ها به ارگانوئید^۲ روده‌ای کوچک تبدیل می‌شوند و توانایی تکوینی خود را برای ساختار بخش خاص یک اندام آشکار می‌کنند. این مثال نشان می‌دهد که روده نیز بخش‌های یدکی خود را برای مقابله با تخریب و تغییر و تبدیل مداوم سلول‌ها دارد و به موجب آن هموستاز بافتی را حفظ می‌کند. خزانه دیگری از سلول‌های بنیادی بالغ در اندام‌های مختلف شناسایی شده است (کلور و وات، ۲۰۱۸)، اما کشت آن‌ها در شرایط آزمایشگاهی و توصیف مولکولی آن‌ها بسیار دشوار بوده است. این امر تا حدی ناشی از همسایگی انحصاری مورد نیاز سلول‌های بنیادی است. سلول‌های بنیادی به‌وضوح باید وضعیت اپی ژنتیکی متفاوتی نسبت به بیشتر همسایگان تمایز یافته خود داشته باشند. به نظر می‌رسد که آن‌ها فقط می‌توانند این وضعیت را در یک محیط خاص، به نام جایگاه^۳ حفظ کنند. یک جایگاه، نشان‌دهنده محیط میکرو بسیار محافظتی است که در یک مکان آناتومیک خاص واقع شده است که در آن سلول‌های بنیادی یافت می‌شوند. در این مکان‌ها، سلول‌های بنیادی بالغ با تلفیقی از برهم‌کنش‌های سلول-سلول یا ماتریکس-سلول، مسیرهای پیام‌دهی غدد درون‌ریز، پاراکرین و اتوکرین، برهم‌کنش‌های فیزیکی خاص، اتصالات عصبی و شرایط فیزیکی-شیمیایی خاص، در حالت سکون نگهداری می‌شوند. با این حال، پس از آسیب بافتی یا برای حفظ هموستاز بافتی، میکرومحیط اطراف به‌طور فعال به سلول‌های بنیادی پیام می‌دهد یا خود نوسازی یا تمایز را برای تشکیل سلول‌های مورد نیاز برای باززایی القا کند. به محض اینکه سلول‌های بنیادی جایگاه را ترک می‌کنند، آن‌ها در معرض پیام‌های تمایز قرار می‌گیرند، ابتدا به سلول‌های تقویت‌کننده موقت تبدیل می‌شوند و سپس سرنوشتی شبیه به همسایگان خود پیدا می‌کنند. با این همه، بازآفرینی شرایط جایگاه در ظرف برای کشت سلول‌های بنیادی چندتوان یک چالش بزرگ بوده است.

^۱. Leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5 (LGR5)

^۲. Organoid

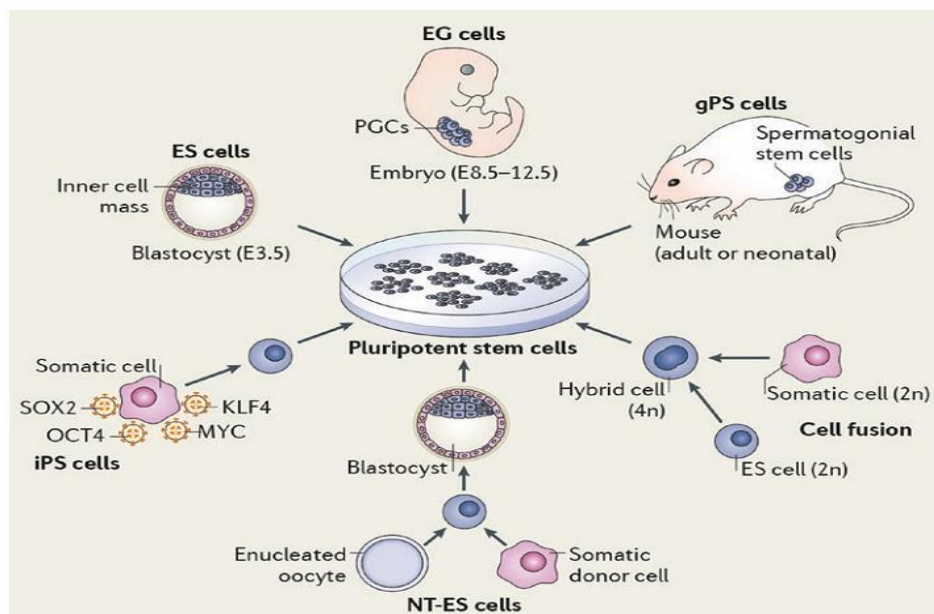
^۳. Niche

۷-۳- منابع سلول‌های بنیادی پرتوان

اگر سلول‌های بنیادی جنینی پرتوان می‌توانند همه انواع سلول‌های جاندار پستاندار را تولید کنند، چرا باید با سلول‌های بنیادی بالغ بدقلق به خود زحمت بدهیم؟ در واقع، ۴۰ سال پیش، سلول‌های بنیادی جنینی موش^۱ از توده سلولی داخلی بلاستوسیست‌ها در یک کشت آزمایشگاهی ایجاد شد. در نهایت، این سلول‌ها را می‌توان در شرایط آزمایشگاهی با ترکیب خاص عوامل تکوینی برای تولید تقریباً همه انواع سلول موش القا کرد و ظرفیت پرتوان آن‌ها را نشان داد. آزمایش‌های با سلول‌های بنیادی جنینی انسان ظرفیت مشابهی را نشان داد. امکان کشت و هدایت این سلول‌های پرتوان از طریق مسیرهای تمایز برای تولید انواع سلول دقیق از نظر عملکردی و مورفولوژیکی، فرصت‌های به ظاهر خارق‌العاده‌ای را برای پزشکی باززاینده پیشنهاد می‌دهد. به موازات آن، روش‌های جایگزین برای جمع‌آوری و تولید سلول‌های پرتوان توسعه داده شد (شکل ۷-۲). علاوه بر توده سلولی توصیف شده از بلاستوسیست‌ها قبل از لانه‌گزینی، دو منبع دیگر از سلول‌های بنیادی پرتوان موش وجود دارند. سلول‌های زایای جنینی می‌توانند از سلول‌های زایای اولیه در اواسط بارداری (۵/۱۲-۸/۵ روز جنینی موش) مشتق شوند. سلول‌های بنیادی پرتوان مشتق از لاین زایا می‌تواند از سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونیال بیضه‌های^۲ نوزاد و بالغ جدا شود.

^۱. Mouse, embryonic, stem, cells. (mESC)

^۲. سلول‌های زایای اولیه از اپی‌بلاست تعیین می‌شوند و دودمان سلولی را تشکیل می‌دهند که به گامت تکوین پیدا می‌کند سلول‌های زایای جنینی از سلول‌های زایای اولیه قبل از اینکه تمایز جنسی خاص توسط پیام‌های القایی، گناد شکل‌گرفته از برجستگی‌های تناسلی مزودرمی را تشکیل دهند، مشتق می‌شود که سلول‌های سوماتیک بیضه و تخمدان را تشکیل می‌دهد سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونیال پیش‌سازهایی در رده زایای نر هستند و باعث تشکیل اسپرماتوسیت‌ها می‌شوند.



شکل ۷-۲: سلول‌های بنیادی پرتوان می‌توانند از چند منبع به‌دست آیند. سه منبع سلول‌های بنیادی پرتوان در داخل بدن وجود دارد (نیمه بالای شکل را ببینید). سلول‌های بنیادی جنینی (ES) از توده سلولی داخلی بلاستوسیست، قبل از لانه‌گزینی جنین مشتق می‌شوند. سلول‌های زایای جنینی (EG) از سلول‌های زایای اولیه (PGCs) در اواسط بارداری (روزهای جنینی ۸/۵ تا ۱۲/۵ در موش) مشتق می‌شوند و سلول‌های بنیادی پرتوان از لاین زایا (gPS) از سلول‌های بنیادی اسپرماتوگونیاال بیضه‌های نوزاد و بالغ مشتق می‌شوند. علاوه بر این، سه مسیر اصلی برای سلول‌های سوماتیک که در حال برنامه‌ریزی مجدد به سمت پرتوان است، توصیف شده است (نیمه پایین شکل را ببینید): ادغام یک سلول سوماتیک و یک سلول ES باعث ایجاد سلول‌های هیبریدی دوباره برنامه‌ریزی شده می‌شود؛ ایجاد سلول‌های بنیادی جنینی انتقال هسته‌ای^۱ (NT-ES) تولیدشده با برنامه‌ریزی مجدد یک هسته سوماتیک توسط یک اووسیت بدون هسته که سپس تا مرحله بلاستوسیست کشت داده می‌شود تا امکان مشتق‌سازی سلول‌های بنیادی جنینی فراهم شود؛ و تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القا شده (iPS) مشتق‌شده از بیان بیش از حد سلول سوماتیک عوامل رونویسی برنامه‌ریزی مجدد، معمولاً OCT4 (همچنین به‌عنوان POU5F1 شناخته می‌شود)، کادر- Sry حاوی ژن^۲ (SOX2)، انکوژن میلویتوماتوز^۳ (MYC) و عامل شبیه Krüppel^۴ (KLF4) (از گاسپار-مایا و همکاران، ۲۰۱۱).

مطالعه تکوین سلول‌های زایای موش امکان مشاهده تجدیدسازمان چشمگیر اطلاعات اپی ژنتیکی را نه تنها در طول بلوغ سلول زایا بلکه پس از لقاح را نیز فراهم کرد (شکل ۷-۳) (سایتو و همکاران، ۲۰۱۲). تغییرات عظیم چشم‌انداز اپی ژنتیکی که در طول زمان شناسایی شد منعکس‌کننده بازسازی

^۱ Nuclear transfer embryonic stem (NT-ES)

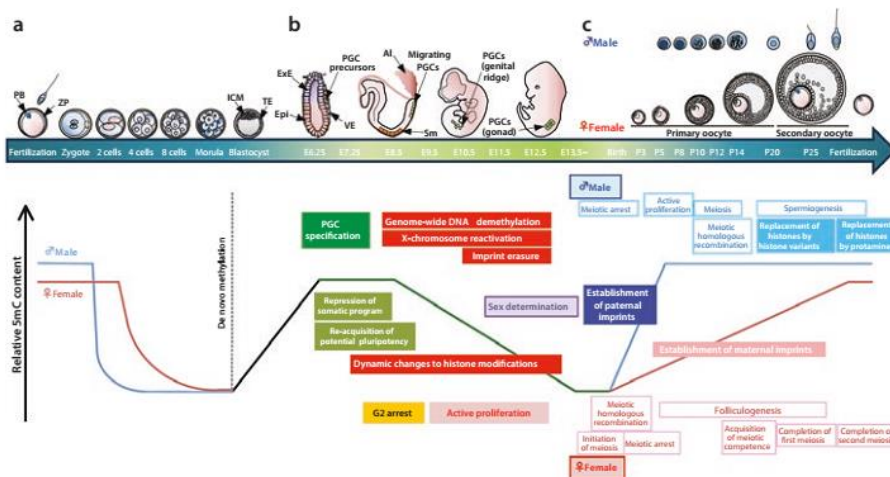
^۲ Sry-box containing gene 2 (SOX2)

^۳ Myelocytomatosis oncogene (MYC)

^۴ Kruppel-like factor 4 (KLF4)

اساسی است که سلول‌های زایا برای بازگرداندن اپی‌ژنوم به حالت پایه انجام می‌دهند (به فصل سوم کتاب مراجعه کنید).

در سلول‌های زایای اولیه، موج‌های مختلف دمتیله و متیلاسیون مجدد DNA همراه با مکانیسم‌های تغییردهنده کروماتین تضمین می‌کند که نشانه‌گذاری‌های ژنومی تنظیم مجدد می‌شوند، کروموزوم‌های X غیرفعال دوباره فعال و امضاهای اپی‌ژنتیکی سوماتیک حذف می‌شوند (به فصل پنجم کتاب مراجعه کنید). مکانیسم‌های مشابهی برای دودمان سلولی سوماتیک اعمال می‌شود. از این‌رو، جانداران با مکانیسم‌های بسیار دقیق به‌شیوه‌ای اساسی و جهت‌دار، چشم‌انداز اپی‌ژنتیکی برخی از انواع سلول‌های خود را برای برنامه‌ریزی مجدد، توسعه داده‌اند.



شکل ۳-۷ تصویری از تکوین قبل از لانه‌گزینی و سلول‌های زایای موش. (بالا) شمایی از تکوین قبل از لانه‌گزینی و سلول زایا در موش. a مراحل تکوین قبل از لانه‌گزینی؛ b تکوین جنینی پس از لانه‌گزینی، به دنبال لانه‌گزینی بلاستوسیت در حدود E4.5؛ و c تکوین سلول‌های زایای پس از تولد و بلوغ. پیش‌سازهای سلول زایای اولیه (E6.25) و سلول‌های زایای اولیه به‌صورت دایره‌های سبزرنگ در جنین‌ها از E6.25 تا E12.5 نشان داده می‌شود. (پایین) رویدادهای ژنتیکی و اپی‌ژنتیکی کلیدی نشان داده می‌شود که با تکوین قبل از لانه‌گزینی و سلول‌های زایا همراه با سطوح نسبی ۵-متیل سیتوزین در مراحل تکوینی مختلف مرتبط هستند. آلانتوا = Al، اپی بلاست = Epi، اکتودرم خارج جنینی = ExE، توده سلولی داخلی = ICM، جسم قطبی = PB، سلول‌های زایای اولیه = PGCs، سومیت = Sm، تروفکتودرم = TE، آندودرم احشایی = VE، زونا پلوسیدا = ZP (سایتو و همکاران، ۲۰۱۲).

¹. Primordial germ cell (PGC)

در دهه‌های گذشته، سه روش آزمایشگاهی برای تولید سلول‌هایی با ظرفیت پرتوان توسعه داده شده است (گاسپار-مایا و همکاران، ۲۰۱۱). ادغام یک سلول سوماتیک تمایز یافته و یک سلول بنیادی جنینی، هسته محدود شده در پتانسیل تکوینی را به حالت پرتوان برنامه‌ریزی مجدد می‌کند. در اینجا، فرایندهای برنامه‌ریزی مجدد می‌تواند در شرایط آزمایشگاهی مطالعه شود و تغییرات بعدی حالت های اپی ژنتیکی می‌تواند در سطح مولکولی دنبال شود. نقطه ضعف، به‌ویژه برای اهداف درمانی، این بود که سلول به‌دست‌آمده دارای هر دو ژنوم ادغامی هستند در نتیجه حالت تتراپلوئیدی به‌دست می‌آید. انتقال یک هسته از یک سلول سوماتیک به یک اووسیت بدون هسته نیز اپی ژنوم را به حالت پایه پرتوان تغییر می‌دهد. انتقال هسته سلول سوماتیک با تولد گوسفند شبیه‌سازی شده دالی به‌طرز شگفت‌انگیزی نشان داده شد و شواهدی ارائه کرد که یک هسته سلول سوماتیک منتقل شده از اپیتلیوم پستان یک میش می‌تواند برای شروع مجدد تکوین و تولید یک پستاندار کامل به‌طور کامل برنامه‌ریزی مجدد شود. برنامه‌ریزی مجدد با استفاده از عوامل رونویسی، امروزه قوی‌ترین تکنیک برای به‌دست آوردن مقادیر فراوان سلول‌ها با پتانسیل تکوینی پرتوان است. علاوه بر این، این روش از نظر اخلاقی نیز کمتر بحث‌برانگیز است؛ زیرا نیازی به دسترسی به اووسیت‌های پستانداران نیست.

با مطالعات زیستی تکوینی، بسیاری از عوامل رونویسی شناسایی شد که به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های اصلی برای تعیین سرنوشت سلول عمل می‌کنند (گراف و انور، ۲۰۰۹). بیان اجباری این تنظیم‌کننده‌های اصلی می‌تواند هویت سلولی تعیین شده را نادیده بگیرد و سلول را به یک نوع سلول جدید تبدیل کند. یک مثال Myf5 است که بیان آن در فیبروبلاست‌ها، تشکیل سلول‌های عضلانی انقباضی را القا می‌کند. به موازات تعیین مجدد، برنامه‌ریزی مجدد اپی ژنوم سلول را می‌توان با استفاده از ابزارهای بیوشیمیایی مشاهده کرد. براساس همین اصول، یاماناکا و همکارانش توانستند یک فیبروبلاست کاملاً تمایز یافته موش را به یک سلول بنیادی پرتوان تغییر دهند (تاکاهاشی یاماناکا ۲۰۰۶). سلول‌های بنیادی جنینی موش به‌طور گسترده مشخص شده بودند و ترانسکریپتوم و شبکه تنظیمی اساسی آن‌ها به‌دقت و به‌طور جامع فهرست‌بندی شد. با استفاده از این اطلاعات، آن‌ها ترکیبی از چهار عامل رونویسی را انتخاب کردند که وقتی به‌صورت مصنوعی در فیبروبلاست‌ها بیان شدند، کل مسیر تمایز را به حالت پرتوان اولیه برگرداندند. با این حال، این فرایند بسیار ناکارآمد بود (کمتر از ۱٪ از سلول‌ها پرتوان شدند که سلول‌های بنیادی پرتوان القایی^۱ نامیده شدند)، در حال حاضر می‌توان گفت که حالت‌های سلولی تمایز یافته بسیار پایدار هستند و فقط تحت شرایط خاص و در موارد نادر، به حالت دیگری برمی‌گردند. ترفند این بود که فیبروبلاست به یک گزارشگر فلورسنت مجهز شود که توسط پروموتور نانوک (پروتئین فلورسنت سبز^۲ + Nanog) کنترل می‌شد، تنها زمانی

^۱. Induced pluripotent stem cells (iPSC)

^۲. Green Fluorescent protein (GFP)

فعال می‌شود که سلول وارد حالت پرتوان شود. پس از آن، سلول‌های بنیادی پرتوان القاشده نیز از فیروبلست‌های انسانی مشتق شدند. در سال‌های بعد، این تکنیک در بسیاری از آزمایشگاه‌ها استاندارد شد و امکان تولید مقادیر زیادی سلول‌های بنیادی پرتوان القاشده از منابع مختلف فراهم شد؛ در نتیجه چشم‌اندازهای برجسته‌ای را برای پزشکی باززاینده باز کرد (به زیر مراجعه کنید). جالب اینجاست که طی این سال‌های تحقیق، راندمان پایین برنامه‌ریزی مجدد سلول بنیادی پرتوان القاشده به‌طور اساسی بهبود داده نشد. این نشان می‌دهد که حافظه سلولی رمزگذاری شده در حالت سوماتیک سلول به‌طور قابل ملاحظه‌ای پایدار است و در برابر برنامه‌ریزی مجدد القاشده بسیار مقاوم است (به فصل سوم مراجعه کنید). از این‌رو، سؤال این است: موانع اساسی اپی‌ژنتیکی که برای برنامه‌ریزی مجدد سلول باید برداشته شوند یا بازسازی شوند، کدام‌اند؟

۷-۴- پویایی کروماتین طی برنامه‌ریزی مجدد

در حال حاضر در سطح میکروسکوپی، هسته‌های سلول‌های بنیادی جنینی مورفولوژی متفاوتی در مقایسه با هسته‌های سلول‌های تمایز یافته نشان می‌دهند. به‌طور خاص، نواحی هتروکروماتین در سلول‌های سوماتیک بسیار قابل تشخیص‌تر و فشرده‌تر هستند که این امر نشان می‌دهد فشردگی نواحی ویژه کروماتین، یک نیروی همراهی‌کننده تمایز است.

این امر نشان می‌دهد که برنامه‌ریزی مجدد سرنوشت‌ها، نه تنها به تغییرات چشم‌اندازهای کروماتین محلی برای فعال کردن یا سرکوب مجموعه‌های مختلف ژن‌ها نیاز دارد، بلکه نیاز به تجدیدسازمان در مقیاس وسیع زمین‌های کروماتین و قلمروهای کروموزومی دارد. نمونه‌ای از این مورد، فعال‌سازی مجدد کل کروموزوم X سرکوب شده در سلول‌های پستانداران ماده^۱ است (به فصل چهارم کتاب مراجعه کنید). از این‌رو، در دسترس بودن تکنیکی که برنامه‌ریزی مجدد کروماتین سوماتیک را به حالت پرتوان القا کند، فرصت خوبی را برای مطالعه فرایندهای اساسی با جزئیات قابل توجه پیشنهاد می‌دهد.

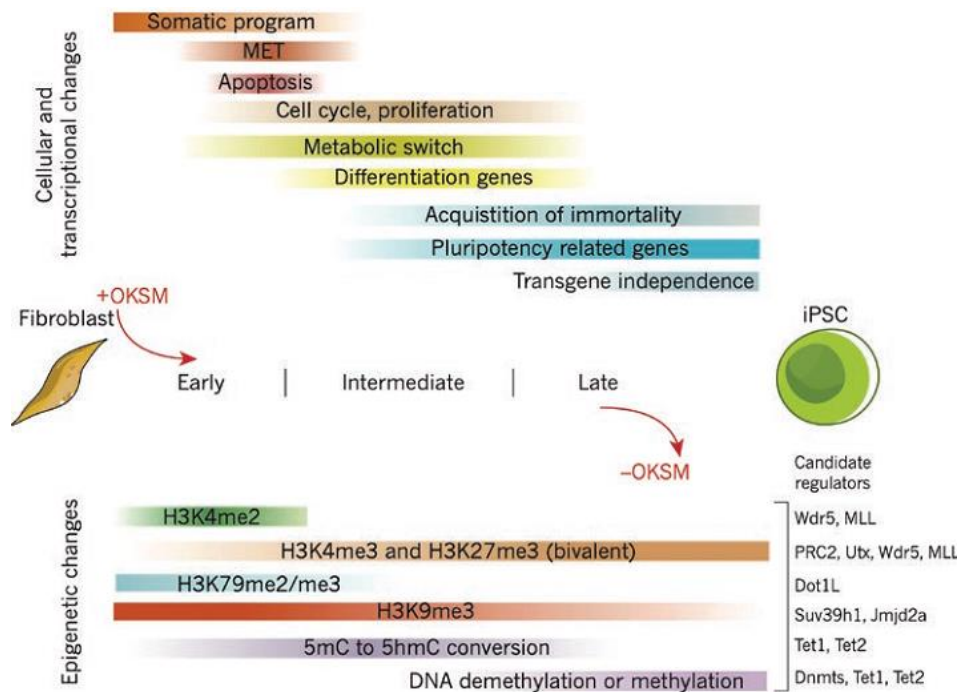
سهولت رشد سلول‌ها در محیط کشت، مطالعات بیوشیمیایی را با استفاده از روش‌های بررسی ترانسکریپتوم کلاسیک، نظیر رسوب ایمنی کروماتین و سایر تکنیک‌های نقشه‌برداری کروماتین قادر ساخت تا تغییرات را در چشم‌انداز اپی‌ژنتیکی طی فرایند برنامه‌ریزی مجدد توضیح دهد. پیچیدگی مشاهده شده انتقال‌های سلولی طی القای سلول‌های بنیادی پرتوان القایی، نگاهی اجمالی به ما می‌دهد که چرا برنامه‌ریزی مجدد زمان قابل توجهی را می‌طلبد و چرا تنها سلول‌های کمی موفق به

^۱. جالب توجه است، فعال‌سازی مجدد کروموزوم X غیرفعال در سلول‌های بنیادی پرتوان القایی موش اما نه در انسان مشاهده می‌شود این موضوع نشان می‌دهد که حالت تکوینی سلول‌های بنیادی جنینی یا سلول‌های بنیادی پرتوان القایی انسان احتمالاً بسیار متفاوت از حالت موش است و متناظر با حالت سلولی تعیین شده‌تر با الگوهای کروماتین تا حدودی ایجاد شده است.

رسیدن به حالت پرتوان می شوند. به نظر می رسد کل فرایند تصادفی باشد و پیش بینی مراحل انفرادی دشوار است. تصور می شود که چهار عامل رونویسی OSKM (Oct4, Sox2, KLF4 و Myc) یک آبشار تغییرات در برنامه رونویسی جمعیت سلول اولیه را القا می کنند. متعاقباً، تنظیم مجدد پروفایل های بیان ژن با همراهی تغییرات در کروماتین و تغییرات DNA باعث: (۱) مهار تنظیم کننده های سوماتیک (۲) القای تکثیر سلولی (۳) مهار مسیرهای پیری و آپوپتوز (۴) فعال سازی جایگاه های پرتوان (۵) کسب استقلال عامل (۶) جاودانگی و در نهایت برنامه ریزی مجدد ساختارهای تلومر، فعال سازی مجدد کروموزوم X و پاک کردن حافظه سلولی می شود (به شکل ۷-۴ نگاه کنید).

عوامل رونویسی وارد شده به صورت اگزو ژنوس قادر به ایجاد یک حلقه خودتنظیمی هستند که در نهایت جایگاه های اندوزنوس مربوطه را فعال می کنند و به موجب آن هویت سلول بنیادی خودتکثیرکننده را حفظ می کنند. این یک گام مهم است؛ زیرا عوامل بیان شده به صورت اگزوزنوس اغلب در طول زمان خاموش می شوند. علاوه بر این، برای تمایز، سلول های بنیادی پرتوان القا شده، مانند سلول های بنیادی جنینی، نیاز به کاهش عوامل پرتوانی دارند و این امر تنها می تواند هنگامی که ژن های اندوژنوس بیان می شوند، انجام شود.

OSKM که به عنوان عوامل پیشگام در فرایندهای برنامه ریزی مجدد عمل می کند، نیاز به حمایت از طرف تغییردهنده های مختلف اپی ژنتیکی از جمله آنزیم های تغییردهنده پس از ترجمه هیستون، عوامل بازسازی کننده نوکلئوزوم، چاپرون های هیستون و آنزیم های تغییردهنده DNA دارند (شکل ۷-۴).



شکل ۴-۷: پویایی رویدادهای مولکولی کلیدی طی برنامه‌ریزی مجدد مستقیم. خلاصه‌ای از تغییرات سلولی، رونویسی و اپی‌ژنتیکی (نوارهای رنگی) که طی تشکیل سلول‌های بنیادی پرتوان القایی (iPSC) از فیبروبلاست‌ها رخ می‌دهد و مثال‌هایی از تنظیم‌کننده‌های کاندیدا که با نشانگرهای کروماتین نشان داده شده در وضعیت برنامه‌ریزی مجدد مستقیم مرتبط بوده‌اند (راست). فلش‌های قرمز، زمان‌های القای عامل اگزوزنوس (+OKSM) و خروج (-OKSM) را نشان می‌دهند. ۵ هیدروکسی متیل سیتوزین = 5hmC، ۵ متیل سیتوزین = 5mC. انتقال مزانشیمی به اپیتلیالی = MET. OKSM (Sox2, Klf4, Oct4, c-Myc) (آپوستولو و هوچلنجر، ۲۰۱۳).

در ابتدا، OSKM به ژن‌های سوماتیک فعال متصل می‌شود که در نهایت تغییر مربوط به تغییرات هیستون فعال آن‌ها مانند H3K4me1 و H3K27ac را به‌عنوان علائم سرکوب‌کننده، القا می‌کند. برعکس، ژن‌های مشخص برای مراحل جنینی، علائم هیستونی منفی خود را از دست می‌دهند و متعاقباً دوباره فعال می‌شوند. در طول کل فرایند، جایگزینی گسترده انواع هیستون، یا با فعال‌سازی مجدد بخش خاموش ژنو (به‌عنوان مثال H2A.X، H2A.2B) یا با حذف انواع سرکوب‌کننده نظیر ماکرو H2A می‌تواند مشاهده شود (به فصل‌های اول و سوم کتاب مراجعه کنید). به‌طور مشابه، چاپرون‌های هیستون نقش مهمی در صف آرایی مجدد هیستون‌ها و نوکلئوزوم‌ها در سطح گسترده ژنوم ایفا می‌کنند. برای مثال، مهار عامل سرهم بندی کروماتین^۱ می‌تواند کارایی برنامه‌ریزی مجدد را افزایش دهد. تمایز ذاتاً به قراردادن ویژه متیلاسیون دی‌نوکلئوتیدی CpG مرتبط است (به فصل

اول کتاب مراجعه کنید). کل دستگاه متیلاسیون و دمتیلاسیون DNA به شدت در طول فرایند برنامه‌ریزی مجدد درگیر می‌شود. DNA دی‌اکسی‌نازها مانند TET1/2 که در فرایند دمتیلاسیون نقش دارند، می‌توانند تا حدی جایگزین OSKM در بازسازی کروماتین شوند. تعجب‌آور نیست که تعدیل‌کردن مقدار و فعالیت عوامل کروماتین (نویسنده، خوانندگان و پاک‌کن‌ها) تأثیر قابل توجهی بر کارایی فرایند برنامه‌ریزی مجدد دارند. به عنوان مثال، افزودن مهارکننده متیلاسیون DNA ۵-آزا-سیتیدین در طول برنامه‌ریزی مجدد به طور قابل ملاحظه‌ای تولید سلول‌های بنیادی پرتوان القاشده را بیش از ۳۰ برابر افزایش می‌دهد. همانطور که انتظار می‌رفت، فرایند برنامه‌ریزی مجدد نه تنها منجر به تنظیم مجدد چشم‌انداز اپی ژنتیک سوماتیک به حالت شبیه سلول‌های بنیادی جنینی می‌شود، بلکه به سازماندهی مجدد کامل معماری و توپولوژی کروماتین سه بعدی نیز می‌انجامد (آپوستولو و استدفلد، ۲۰۱۸).

۷-۵- درمان‌های باززاینده

فناوری‌های سلول‌های بنیادی قطعاً یک پیشرفت بزرگ در پزشکی باززاینده هستند (چری و دالی، ۲۰۱۲). در دسترس بودن مقادیر زیادی از سلول‌ها با ظرفیت تکوینی پرتوان، فرصت‌های استثنایی برای ایجاد سلول درمانی جدید فراهم می‌کند. علاوه بر این، سلول‌های بنیادی پرتوان القاشده از بیماران مبتلا به سندرم‌های خاص می‌تواند مشتق شود و به عنوان مدلی برای مطالعه بیماری استفاده شود. به این ترتیب، غربالگری‌های دارویی خاص و تست‌های تشخیصی برای پزشکی شخصی‌سازی شده می‌تواند توسعه یابد. یک پیشرفت بسیار هیجان‌انگیز مبتنی بر سلول‌های بنیادی به‌طور کلی و سلول‌های بنیادی پرتوان القاشده به‌طور خاص، امکانی برای ایجاد ساختارهای ارگانوئیدی در شرایط آزمایشگاهی فراهم می‌کند (آکرمن و دفیز، ۲۰۱۷).

در اصل، ساختارهای کوچک بافت سه‌بعدی در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از سلول‌های کشت بافت تولید شد. در بیشتر موارد، این سلول‌ها حالت تومورزایی دارند؛ زیرا می‌توانند به‌طور نامحدود در ظرف تکثیر شوند و بنابراین سودمندی این اندام‌های کوچک محدود بود. در دسترس بودن سلول‌های بنیادی جنینی خودتجدیدشونده و در نهایت سلول‌های بنیادی پرتوان القاشده امکان توسعه کشت پیچیده و شرایط تمایز را فراهم کرد که منجر به ساختارهای ارگانوئیدی با شباهت مورفولوژیکی و عملکردی قابل توجه به اندام واقعی شد. در اینجا نیز، در دسترس بودن سلول‌های بنیادی پرتوان القاشده از بیماران به عنوان منبعی برای ساخت ارگانوئید خاص به محققان این امکان را می‌دهد تا تأثیر سندرم‌های انسانی را بر تکوین اولیه اندام مربوطه مطالعه کنند.

با وجود اشتیاق فوق‌العاده که همراه با فناوری سلول‌های بنیادی پرتوان القایی است، تاکنون تنها چند کارآزمایی بالینی، سودمندی پزشکی پیوندهای سلول بنیادی را آزمایش کرده‌اند. همان‌طور که

گفته شد، فرایندهای باززاینده طبیعی تقریباً در تمام حیوانات پیچیده پای سلول‌هایی با پتانسیل تکوینی پرتوان را به میان نمی‌کشد، ولی شامل سلول‌های بنیادی چندتوان مختص اندام و بافت و سلول‌های اجدادی می‌شوند. به دلایل معتبر، جاندار سلول‌ها را در حالت پرتوان مهار می‌کنند و تحت کنترل دقیق نگه می‌دارند (به تکوین سلول زایا مراجعه کنید). سلول‌های سرطانی اغلب با تمایززدایی به قابلیت مخرب و تکثیر بسیار زیاد خود می‌رسند و این قابلیت را حفظ می‌کنند و در نتیجه شباهت اپی‌ژنتیکی خود را با سلول‌های بنیادی جنینی افزایش می‌دهند (به فصل‌های سوم و هشتم کتاب مراجعه کنید). اتفاقاً اولین سلول‌های پرتوان که در شرایط آزمایشگاهی کشت شدند از تراتوکارسینوما (سرطان‌های رده زایا) بودند. از این رو، فقط یک خط باریک بین تکوین طبیعی از یک حالت پرتوان و تکوین دژنره وجود دارد. در واقع، زمانی که سلول‌های بنیادی پرتوان القاشده به پوست موش پیوندزده می‌شوند، به سرطان کارسینوما تبدیل می‌شوند، اما تزریق به بلاستوسیست‌ها به آن‌ها اجازه می‌دهد تا در تکوین طبیعی مشارکت کنند. علاوه بر این، مشخص شد که سلول‌های بنیادی پرتوان القا شده همیشه تمام علائم اپی‌ژنتیکی را از حالت سوماتیکی که از آن مشتق شده‌اند پاک نمی‌کنند و برای مثال، الگوهای مشخص متیلاسیون DNA سوماتیک را باقی می‌گذارند. این امر یک تاریخچه اپی‌ژنتیکی ناخواسته را به سلول‌های شروع‌کننده تحمیل می‌کند و ممکن است در شرایط خاص منجر به رفتار تمایز نابهنجار، شروع پیری یا حساسیت به دژنراسیون شود. استفاده از سلول‌های بنیادی پرتوان القایی مشتق شده از همان فرد برای اجرای فرایندهای باززاینده به‌طور بالقوه مشکلات شناخته شده رد عضو را دور می‌زند. با این حال، تحویل و ادغام سلول‌های بنیادی پرتوان القاشده به بخش‌های آسیب‌دیده در جاندار هنوز یک چالش بزرگ است.

فناوری نسل دوم سلول‌های بنیادی پرتوان القایی در تلاش است تا برخی از این مشکلات را با القای فرایند برنامه‌ریزی مجدد در داخل بدن کاهش دهد (مارتینز-ردوندو و بلمونتو، ۲۰۲۰). فناوری CRISPR/Cas9 اشکالی از آنزیم Cas9 را تولید کرد که امکان تغییرکردن تغییرات هیستون و سایر علائم اپی‌ژنتیکی را به شیوه‌ای خاص برای یک مکان فراهم می‌کند. به‌طور بالقوه، این رویکرد می‌تواند به فرایند برنامه‌ریزی مجدد کامل به حالت پرتوان و همچنین برنامه‌ریزی مجدد جزئی به حالت‌های تمایز بینابینی یا جایگزین کمک کند. به هر حال، بیشتر فرایندهای باززاینده شناخته‌شده در جانداران پیچیده، از مورد دوم برای بازسازی اندام‌ها یا بافت‌های آسیب‌دیده استفاده می‌کنند، یا از سلول‌های بنیادی بسیار تخصصی با پتانسیل محدود استفاده می‌کنند یا سرنوشت‌های جدید ضروری را برای سلول‌های محل آسیب مجدداً تعیین می‌کنند؛ بنابراین، زیست‌شناسی و پزشکی باززاینده باید این فرایندها را با جزئیات بسیار بهتر درک کنند تا بتوانند از درمان‌های سلولی به شیوه قابل کنترل و پیش‌بینی‌کننده استفاده کنند.

بسیار واضح است که چشم انداز اپی ژنتیکی سلول های استفاده شده در درمان ها از اهمیت حیاتی برخوردار است. از این رو، پروفایل اپی ژنتیک سلول های بنیادی استفاده شده در وضعیت بالینی به عنوان یک نیاز اجباری به نظر می رسد، همان طور که تعیین توالی ژنوم برای حذف دودمان سلولی با موتاسیون های بالقوه مضر اجباری است. در واقع، از نظر فنی، ما به قابلیت هایی دست یافتیم که سلول ها را به طور جامع از نظر یکپارچگی ژنتیکی و اپی ژنتیکی غربالگری کنیم. چیزی که ما هنوز فاقد آن هستیم، دانش بهتری در این مورد است که چگونه فرایندهای بازآینده طبیعی می توانند اپی ژنوم سلول های سوماتیک را به حالت چندتوان خاص اندام مورد نظر برنامه ریزی مجدد کنند. این امر اجازه می دهد تا درمان های سلولی را به شیوه ای بسیار کنترل شده تر به کار ببریم.

پیام کلیدی این فصل که باید به خاطر سپرد.

- دوزیستان و بسیاری از حیوانات دیگر می توانند ساختارهای پیچیده بدن را از طریق بلاستما (باززایی اپی مورفیک) باززایی کنند. در بلاستما، رویدادهای پیام دهی منظم، سلول ها را برای الگوبرداری و فرایندهای تکوین مجدد برنامه ریزی می کنند.
- در باززایی صفحات انگاشتی مگس سرکه، JNK در محل زخم و در بلاستما فعال می شود که این امر منجر به فروتنظیم خاموشی گروه پلی کومب و در نتیجه فعال سازی مجدد بسیاری از ژن های هدف گروه پلی کومب خاموش شده، مانند تنظیم کننده های اصلی هومئوتیک می شود.
- تمایز دایی و ترانمایز سلول ها/ بافت ها در مهره داران نیز برای تولید سلول هایی با ساختار و عملکردهای لازم برای باززایی زخم یا آسیب اندام در همسایگی آنها استفاده می شود.
- سلول های بنیادی بالغ مختص اندام به باززایی فیزیولوژیکی مورد نیاز برای بافت ها و اندام ها، مانند روده یا پوست که تحت فشارهای مکانیکی و شیمیایی دائمی هستند، کمک می کنند. آنها دستخوش برنامه های تمایز خاص و برنامه ریزی مجدد اپی ژنتیکی گسترده برای حفظ هموستاز بافتی قرار می گیرند.
- از سلول های بنیادی خون ساز در کلینیک برای درمان بیماران لوسمی استفاده می شود. جداسازی و کشت سلول های بنیادی سایر اندام ها به سختی انجام می شود و به شرایط خاص جایگاه های سلول بنیادی نیاز دارد.
- سلول های بنیادی پرتوان را برای تمایز به هر نوع سلول دیگری می توان تحریک کرد. فناوری سلول های بنیادی پرتوان القایی، سلول های تمایز یافته را به سلول های بنیادی پرتوان القاشده برنامه ریزی مجدد می کند. برنامه ریزی مجدد مبتنی بر عامل رونویسی، مسیرهای متعددی را در برمی گیرد که نیازمند معکوس کردن بسیاری از فرایندهای اپی ژنتیکی است.

- برخی از ناکارآمدی‌های برنامه‌ریزی مجدد سلول‌های بنیادی پرتوان القایی، با تغییر دادن سیستم حافظه سلولی سلول‌های تمایز یافته به حالت جنینی می‌تواند توضیح داده شود. پاک کردن پی‌درپی و بسیار هماهنگ علائم کروماتین و الگوهای متیلاسیون DNA باید طی برنامه‌ریزی مجدد رخ دهد.

- سلول‌های بنیادی پرتوان القاشده می‌تواند برای درمان‌های سلولی استفاده شود. سلول‌های بنیادی پرتوان القاشده مشتق شده از بیمار می‌تواند برای مطالعه بیماری یا برای توسعه داروهای جدید استفاده شود. یک مسیر جدید امیدوارکننده، مهندسی ساختارهای ارگانوئیدی خودسازمانده با استفاده از کشت‌های سلولی بنیادی پرتوان القاشده‌است.

منابع

- Ahmed-de-Prado S, Baonza A (2018) *Drosophila* as a model system to study cell signaling in organ regeneration. *Biomed Res Int* 2018:7359267, <https://doi.org/10.1155/2018/7359267>.
- Akkerman N, Defize LHK (2017) Dawn of the organoid era: 3D tissue and organ cultures revolutionize the study of development, disease, and regeneration. *BioEssays: News Rev Mol Cell Develop Biol* 39(4):1600244, <https://doi.org/10.1002/bies.201600244>.
- Apostolou E, Hochedlinger K (2013) Chromatin dynamics during cellular reprogramming. *Nature* 502:462.
- Apostolou E, Stadtfeld M (2018) Cellular trajectories and molecular mechanisms of iPSC reprogramming. *Curr Opin Genet Dev* 52:77-85. <https://doi.org/10.1016/j.gde.2018.06.002>.
- Barrero MJ, Izpisua Belmonte JC (2011) Regenerating the epigenome. *EMBO Rep* 12(3):208-215. <https://doi.org/10.1038/embor.2011.10>.
- Beira JV, Torres J, Paro R (2018) Signalling crosstalk during early tumorigenesis in the absence of Polycomb silencing. *PLoS Genet* 14(1):e1007187, <https://doi.org/10.1371/journal.pgen.1007187>.
- Carlson BM (2005) Some principles of regeneration in mammalian systems, *Anat Rec B New Anat* 287(1):4-13. <https://doi.org/10.1002/ar.b.20079>.
- Cherry ABC, Daley GQ (2012) Reprogramming cellular identity for regenerative medicine. *Cell* 148(6):1110-1122. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2012.02.031>.
- Clevers H, Watt FM (2018) Defining adult stem cells by function, not by phenotype. *Ann Rev Biochem* 87(1):annurev-biochem-062917-012341. <https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-062917-012341>.
- Gaspar-Maia A, Alajem A, Meshorer E, Ramalho-Santos M (2011) Open chromatin in pluripotency and reprogramming. *Nat Publ Group* 12(1):36-47. <https://doi.org/10.1038/nrm3036>.
- Graf T, Enver T (2009) Forcing cells to change lineages. *Nature* 462(7273):587-594. <https://doi.org/10.1038/nature08533>.
- Hariharan IK, Serras F (2017) Imaginal disc regeneration takes flight. *Curr Opin Cell Biol* 48:10-16. <https://doi.org/10.1016/j.ccb.2017.03.005>.
- Ikeuchi M, Favero DS, Sakamoto Y, Iwase A, Coleman D, Rymen B, Sugimoto K (2019) Molecular mechanisms of plant regeneration, *Annu Rev Plant Biol* 70:377-406. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100434>.
- Lee N, Murance C, Ringrose L, Paro R (2005) Suppression of PcG by JNK signalling induces trans-determination in *Drosophila* imaginal discs, *Nature* 438-234-237.
- Martinez-Redondo P, Izpisua Belmonte JC (2020) Tailored chromatin modulation to promote tissue regeneration. *Semin Cell Dev Biol* 97:3-15. <https://doi.org/10.1016/j.semedb.2019.04.015>.
- Saitou M, Kagiwada S, Kurimoto K (2012) Epigenetic reprogramming in mouse pre-implantation development and primordial germ cells. *Development* 139(1):15-31. <https://doi.org/10.1242/dev.050849>.
- Takahashi K, Yamanaka S (2006) Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell* 126(4):663-676, <https://doi.org/10.1016/j.cell.2006.07.024>.

- Tanaka EM, Reddien PW (2011) The cellular basis for animal regeneration. *Dev Cell* 21(1):172-185. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2011.06.016>.
- Tetteh PW, Farin HF, Clevers H (2015) Plasticity within stem cell hierarchies in mammalian epithelia. *Trends Cell Biol* 25. Elsevier Ltd Created using Matnyaar - <https://matnyaar.ir>.

فصل هشتم
اپی ژنتیک و سرطان

مطالبی که در این فصل یاد خواهید گرفت.

تغییرات در عملکرد کروماتین و مکانیسم‌های اپی ژنتیکی یک شاخص سرطان است. اختلال در فرایندهای اپی ژنتیک با تغییر بیان ژن و شروع و پیشرفت سرطان مرتبط است. پروژه‌های اخیر توالی یابی ژنوم سرطان نشان داد که تنظیم‌کننده‌های اپی ژنتیک متعددی اغلب در سرطان‌های مختلف دچار موتاسیون می‌شوند. این اطلاعات نه تنها به عنوان نشانگرهای پیش‌آگهی و پیش‌بینی‌کننده برای هدایت تصمیم‌های درمانی استفاده می‌شود، بلکه اطلاعات مهمی را برای درک مکانیسم‌های مولکولی تنظیم اپی ژنتیک در شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیک فراهم می‌کند. علاوه بر این، ماهیت برگشت‌پذیر انحرافات اپی ژنتیک منجر به ظهور حوزه امیدوارکننده درمان اپی ژنتیکی شده است که گزینه‌های درمانی جدیدی را برای بیماران مبتلا به بدخیمی‌هایی که با تغییرات اپی ژنتیکی مشخص می‌شوند، فراهم کرده است و مبنای پزشکی جدید و شخصی‌سازی شده را ایجاد کرده است.

۸-۱- اپی ژنتیک و سرطان

سرطان شامل گروهی بالغ بر ۱۰۰ بیماری مختلف و متمایز است که در آن سلول‌های غیرطبیعی بدون کنترل تقسیم می‌شوند و می‌توانند به بافت‌های مجاور حمله کنند. سرطان دومین عامل مرگ و میر در جهان است. در سال‌های اخیر تلاش‌های شگرف و پیشرفت‌های چشمگیری برای شناخت و درمان این بیماری انجام شده است. به‌ویژه، جدیدترین فناوری‌های توالی‌یابی، دستیابی به یک توالی کامل DNA تعداد زیادی از ژنوم‌های سرطانی را ممکن ساخته است. این بررسی‌ها تغییرات ژنتیکی را نه تنها بین ژنوم‌های طبیعی و سرطانی، بلکه بین ژنوم تومورهای بیماران مبتلا به همان نوع سرطان شناسایی کرد. این تلاش شگرف، اطلاعات مناسبی را برای تاریخچه تکوین تومور در سطح مولکولی فراهم کرده است و مبنایی برای یک رویکرد درمانی شخصی‌سازی شده است که به پزشکان اجازه می‌دهد درمان‌ها را بر اساس درک مولکولی بیماری آن‌ها انتخاب کنند.

اولین نشانه‌های ارتباط اپی ژنتیکی با سرطان از مطالعات بیان ژن و متیلاسیون DNA سرچشمه می‌گیرد. در دهه گذشته شتاب قابل توجهی در تأیید این مفهوم مشاهده شده است که سرطان نه تنها یک بیماری ژنتیکی است بلکه یکی از ناهنجاری‌های اپی ژنتیکی نیز است. این دیدگاه به‌طور قابل توجهی با نتایج توالی‌یابی کل ژنوم تقویت شده است و نشان می‌دهد که تنظیم‌کننده‌های متعدد اپی ژنتیکی اغلب هدف موتاسیون‌ها و اپی موتاسیون‌ها در سلول‌های سرطانی هستند و یک تعامل جالب بین این دو وجود دارد. فراوانی موتاسیون‌های سرطانی که شامل این ژن‌ها می‌شود، عملاً بر تمام سطوح تنظیم اپی ژنتیک، از جمله بازیگران کلیدی در متیلاسیون DNA، تغییرات هیستون و سازمان‌دهی کروماتین تأثیر می‌گذارد، اما بر سوبستراهای این تغییرات، مانند هیستون‌ها نیز تأثیر می‌گذارد. شناسایی موتاسیون‌ها در نویسندگان، خواننده‌ها و پاک‌کن‌ها و همچنین تغییرات در

چشم‌انداز اپی ژنتیکی در سرطان‌ها، نه تنها دلالت بر نقش مسبب این عوامل در شروع و پیشرفت سرطان دارد، بلکه اهداف بالقوه‌ای را برای مداخله درمانی فراهم می‌کند. در این فصل، ما بهترین تغییرات اپی ژنتیکی و کروماتین مطالعه شده و یافت شده در سرطان‌ها (متیلاسیون DNA، تری متیلاسیون هیستون H3K27، استیلاسیون هیستون و عوامل بازسازی کننده کروماتین)، چگونگی وقوع این تغییرات و چگونگی مشارکت آن‌ها در شروع و پیشرفت سرطان را شرح می‌دهیم. ما همچنین مثال‌هایی از توسعه مهارکننده‌های اپی ژنتیک و استراتژی‌هایی برای کاربرد درمانی آن‌ها ارائه می‌کنیم.

۸-۲-۲- متیلاسیون DNA و سرطان

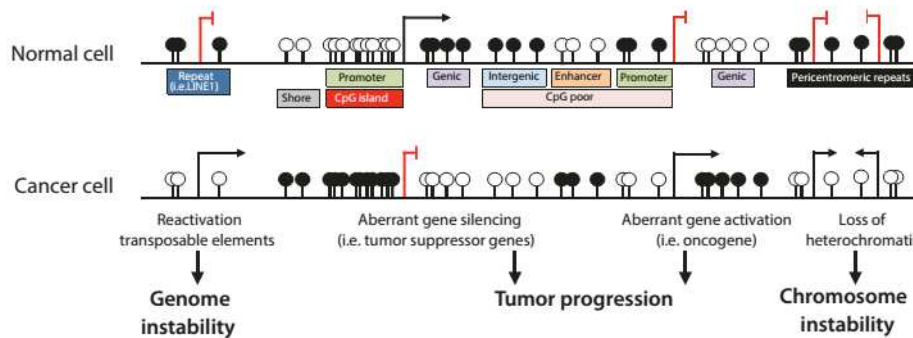
متیلاسیون نابه جای DNA اولین ناهنجاری اپی ژنتیکی بود که در سرطان‌های انسانی شناسایی شد (فین برگ و واگلشتاین، ۱۹۸۳). متیلاسیون DNA یک مکانیسم خاموشی ژن پایدار را فراهم می‌کند که نقش مهمی در تنظیم بیان ژن و معماری کروماتین در ارتباط با تغییرات هیستون و سایر پروتئین‌های مرتبط با کروماتین ایفا می‌کند (فصل هفتم کتاب را ببینید). تغییرات شناسایی شده در سرطان‌ها می‌تواند هایپرمتیلاسیون پروموتور و خاموشی حاصل از ژن‌های سرکوبگر تومور (بخش ۸-۲-۱)، هایپومتیلاسیون فراگیر که با بی‌ثباتی ژنومی مرتبط شده است (بخش ۸-۲-۲) و تغییرات متیلاسیون DNA در مناطق کنترل نشانه گذاری به خاطر از دست دادن نشانه گذاری باشد (فصل پنجم کتاب را ببینید). مناطق متیلاسیون با چگالی کم در نزدیکی جزایر CpG، معروف به ساحل، تنوع زیادی را در متیلاسیون DNA، از جمله هیپومتیلاسیون و هایپرمتیلاسیون، در انواع مختلف سرطان نشان می‌دهند.

۸-۲-۱- هایپرمتیلاسیون DNA در سرطان

بسیاری از ژن‌های مرتبط با جزایر CpG در سرطان تحت متیلاسیون از آغاز^۱ قرار می‌گیرند. فنوتیپ متیله کننده جزیره CpG^۲ به عنوان متیلاسیون مکرر چندین جزیره CpG تعریف می‌شود و در بسیاری از انواع سرطان‌ها یافت شده است (شکل ۸-۱). وضعیت فنوتیپ متیله کننده جزیره CpG به طور منحصربه فردی با ویژگی‌های بالینی آسیب شناسی خاص در انواع سرطان انفرادی مرتبط است و پتانسیل ارائه اطلاعات برای تشخیص سرطان و طبقه بندی بیماران برای درمان‌های درمانی خاص را دارد.

^۱. *De novo*

^۲. CpG island methylator phenotype (CIMP)



شکل ۸-۱- ژنوم‌های طبیعی و سرطانی پروفایل‌های متیلاسیون DNA متمایزی را نشان می‌دهند. این تصویر تفاوت متیلاسیون DNA در عناصر تنظیم‌کننده ژن معین و تکرارهای بین سلول‌های طبیعی و سرطانی را نشان می‌دهد. این تغییرات شامل هایپرمتیلاسیون جزایر CpG و هایپومتیلاسیون در عناصر قابل انتقال و هتروکروماتین پیرامون سانترومری است. این تغییرات باعث خاموش شدن رونویسی ژن‌های سرکوبگر تومور، افزایش بیان انکوژن‌ها و ناپایداری ژنوم و کروموزوم می‌شود. دایره سفید: CpG غیرمتیله؛ دایره سیاه: CpG متیله شده.

از آنجایی که متیلاسیون DNA با سرکوب ژن مرتبط است، پیشنهاد شده است که اکتساب جدید/ناهنجار متیلاسیون DNA به سرکوب ژن‌هایی کمک می‌کند که در بافت طبیعی فعال هستند و احتمالاً در فعالیت‌های سرکوب تومور نقش دارند.^۱ بر این اساس، هایپرمتیلاسیون در سرطان‌ها با سرکوب ژن‌های دخیل در مسیرهای مرتبط با سرطان، مانند کنترل چرخه سلولی، ترمیم DNA، آپوپتوز و رگزایی مرتبط است. پروفایل هایپرمتیلاسیون جزایر CpG در ژن‌های سرکوبگر تومور، مختص نوع سرطان است. نمونه‌هایی از این متیلاسیون در پروموتور ژن سرکوبگر تومور *VHL* (مرتبط با بیماری فون هیل-لیندو) در سرطان کلیه، ژن کنترل‌کننده چرخه سلولی *p16* در بسیاری از انواع سرطان، ترمیم نامناسب DNA ژن هومولوگ MutL^۲ در سرطان کولورکتال و ژن حساس سرطان پستان^۳ در سرطان پستان و تخمدان هستند. اگرچه این‌ها نمونه‌های مهمی از سرکوب ژن با واسطه متیلاسیون DNA هستند، ولی همچنین نشان داده شد که بخش بزرگی از ژن‌هایی که متیلاسیون DNA در سرطان را به دست می‌آورند قبلاً در سطح رونویسی در بافت طبیعی سرکوب شده‌اند. پیشنهاد شد که سرکوب این ژن‌ها عمدتاً از طریق پروتئین‌های گروه پلی‌کومب که H3K27me3 را ایجاد می‌کنند، عمل می‌کند (به فصل سوم مراجعه کنید). همچنین نشان داده شد که ژن‌هایی که

^۱. فعالیت‌های سرکوب‌کننده تومور توسط ژن‌های سرکوبگر تومور انجام می‌شود، دسته‌ای از ژن‌هایی که تکثیر سلولی را تنظیم می‌کنند و غیرفعال‌سازی آن‌ها می‌تواند نقش عمیقی در ایجاد بدخیمی‌ها ایفا کند.

^۲. MutL Homolog 1 (*MLH1*)

^۳. Breast-cancer susceptibility 1 (*BRCA1*) gene

با متیلاسیون DNA در سرطان هدف قرار می‌گیرند، حالت رونویسی آماده در سلول‌های بنیادی جنینی را دارند و در حفظ ویژگی بنیادی بودن و خودنوسازی در سلول‌های بنیادی طبیعی نقش دارند. فعال‌سازی مجدد آن‌ها در مراحل تعریف‌شدهٔ تکوین از طریق حذف کمپلکس‌های سرکوبگر گروه پلی‌کومب اتفاق می‌افتد؛ بنابراین، به‌دست آوردن متیلاسیون DNA در ژن‌هایی که از قبل در حالت سرکوب‌شده هستند، ممکن است به یا فروتنظیم بیشتر و/یا ایجاد یک سرکوب پایدار کمک کند که از فعال‌سازی جلوگیری می‌کند و در نتیجه به یک حالت سرطانی شبیه سلول‌های بنیادی کمک می‌کند. با این حال، مکانیسم‌هایی که متیلاسیون از نو در ژن‌های حیاتی برای سرطان را هدف قرار می‌دهند، هنوز ناشناخته هستند.

۸-۲-۲- هایپو متیلاسیون DNA در سرطان

از دست دادن ۵-متیل سیتوزین اولین ناهنجاری اپی ژنتیکی بود که در سرطان انسان شناسایی شد. از دست دادن متیلاسیون DNA عمدتاً در توالی‌های DNA تکراری، مناطق رمزکننده و اینترون‌ها رخ می‌دهد (شکل ۸-۱). دمتیلاسیون گستردهٔ DNA مشاهده شده در پیشرفت تومور به‌عنوان منبع به‌طور پیوسته تولیدشدهٔ تنوع سلولی مرتبط با سرطان‌ها پیشنهاد شد. در طول توسعهٔ یک نئوپلاسم^۱، درجهٔ هایپومتیلاسیون DNA ژنومی با پیشرفت ضایعه از یک تکثیر خوش خیم سلول‌ها (هایپرپلازی)^۲ به یک سرطان^۳ مهاجم و بالقوه متاستاتیک افزایش می‌یابد (فراگا و همکاران، ۲۰۰۴).

هایپومتیلاسیون DNA در سرطان، پیامدهای متعددی از جمله فعال‌سازی ژن، از دست دادن نشانه گذاری، فعال‌سازی مجدد عناصر قابل انتقال و ناپایداری ژنوم را دارد. متیلاسیون DNA به‌ویژه در عناصر تکراری متمرکز است و ممکن است فعالیت ژنومی آن‌ها را محدود کند. از دست دادن متیلاسیون DNA می‌تواند به نوترکیبی میتوزی کمک کند و منجر به حذف، جابه‌جایی و بازآرایی کروموزومی شود. علاوه بر این، هایپومتیلاسیون DNA در سلول‌های بدخیم می‌تواند عناصر قابل انتقال، مانند عنصر هسته‌ای طولیل پراکنده^۴ که ۱۷ درصد از ژنوم انسان را تشکیل می‌دهد، دوباره فعال کند (شکل

^۱. نئوپلاسم یک تودهٔ غیرطبیعی از بافت است، زمانی تشکیل می‌شود؛ که سلول‌ها بیش از حد طبیعی خود رشد می‌کنند؛ و تقسیم می‌شوند؛ و زمانی که از قبل برایشان تعیین شده، نمی‌میرند نئوپلاسم‌ها ممکن است خوش خیم (نه سرطانی) یا بدخیم (سرطان) باشند نئوپلاسم‌های خوش خیم ممکن است بزرگ شوند؛ اما به بافت‌های مجاور یا سایر قسمت‌های بدن گسترش نمی‌یابند یا به آنها حمله نمی‌کنند نئوپلاسم‌های بدخیم می‌توانند به بافت‌های مجاور گسترش یابند یا به آن‌ها حمله کنند آن‌ها همچنین می‌توانند از طریق خون؛ و سیستم لنفاوی به سایر قسمت‌های بدن گسترش یابند.

^۲. هایپرپلازی به افزایش تعداد سلول‌ها در یک اندام یا بافت به دلیل از دست دادن کنترل تکثیر اشاره دارد این سلول‌ها در زیر میکروسکوپ طبیعی به نظر می‌رسند آنها سرطان نیستند؛ اما ممکن است تبدیل به سرطان شوند.

^۳. سرطان متاستاتیک سرطانی است؛ که از قسمتی از بدن؛ که از آنجا شروع شده است (محل اولیه، سرطان اولیه) به سایر نقاط بدن گسترش یافته است.

^۴. Long interspersed nuclear element LINE 1

۸-۱). تعداد زیادی از این تکرارها، هنگامی که دوباره فعال شوند، می‌توانند جابه‌جایی را به سایر مناطق ژنومی ارتقا دهند و در نتیجه بر یکپارچگی ژنوم تأثیر بگذارند. هیپومتیلایسیون همچنین می‌تواند در نواحی پیرامون سانترومری کروموزوم (نزدیک محل اتصال دوک میتوزی) رخ دهد و بازآرایی در هتروکروماتین پیرامون سانترومری کروموزوم‌های ۱ یا ۱۶ در بسیاری از انواع سرطان‌ها دیده می‌شود.

۸-۲-۳- از دست دادن نشانه‌گذاری از طریق تغییرات متیلایسیون DNA

سندرم بکویت- ویدمن^۱ مثال مهمی از اختلال در نشانه‌گذاری ژنوم از طریق تغییر در متیلایسیون DNA است (فصل پنجم کتاب را ببینید). سندرم بکویت- ویدمن با ماکروزومی، ماکروگلوپسیا و نقایص دیواره شکم مشخص می‌شود و تمایل به تومورزایی دارد (سوجیما و هیگاشیموتو، ۲۰۱۳). به‌طور خاص، ایجاد تومورهای جنینی (به‌عنوان مثال تومور ویلمز، هپاتوبلاستوم و رابدومیوسارکوم) یکی از ویژگی‌های عودکننده سندرم بکویت- ویدمن است. ناحیه کروموزومی نشانه‌گذاری شده مربوطه در سندرم بکویت- ویدمن که از نظر اپی ژنتیکی تغییر داده می‌شود، ۱۱p۱۵.۵ است که متشکل از دو دمین نشانه‌گذاری *CDKN1C/KCNQ1OT1* و *IGF2/H19* (شکل ۸-۲) است (همچنین به فصل پنجم کتاب نگاه کنید).

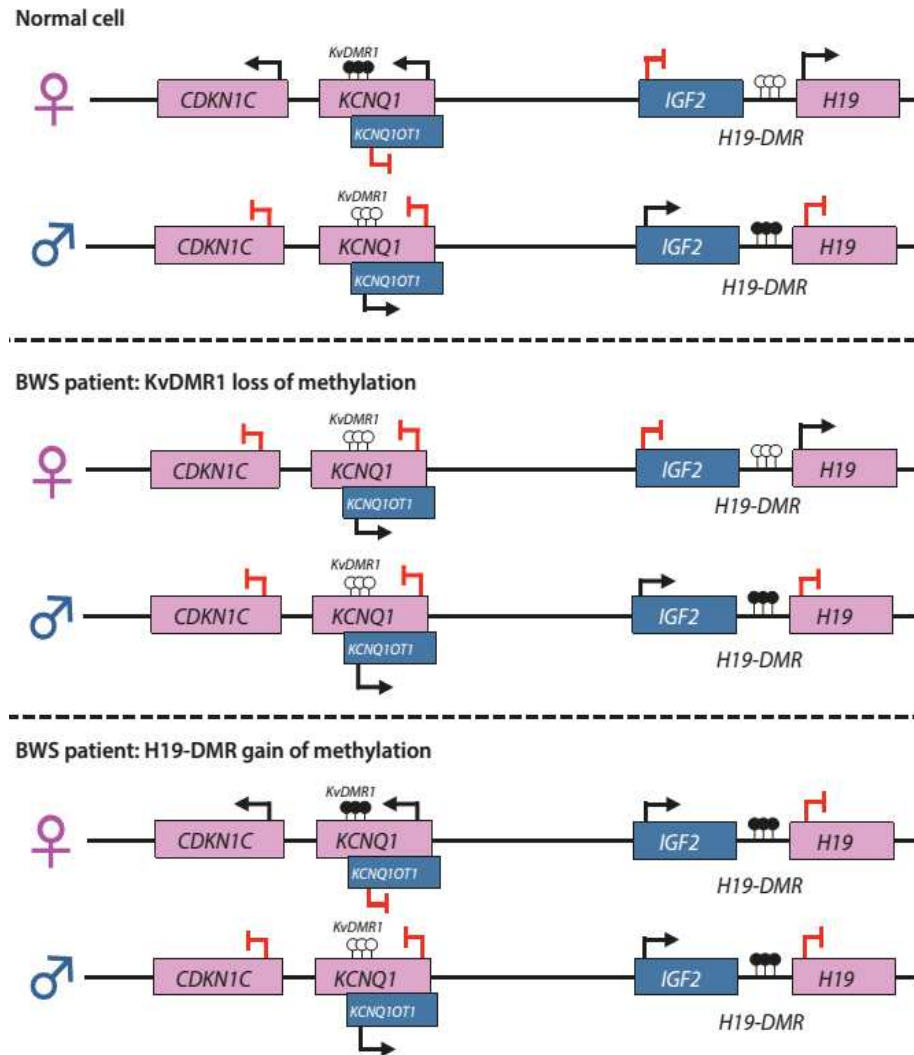
در دمین نشانه‌گذاری *CDKN1C*، *CDKN1C/KCNQ1OT1* (مهارکننده کیناز وابسته به سیکلین C1) به‌صورت مادری بیان می‌شود؛ درحالی‌که RNA طولی غیررمزکننده *KCNQ1OT1* به‌صورت پدری بیان می‌شود. ناحیه کنترل نشانه‌گذاری دمین *CDKN1C/KCNQ1OT1*، ناحیه متیله شده به‌طور افتراقی KvDMR است که با پروموتور *KCNQ1OT1* همپوشانی دارد. KvDMR روی آلل مادری متیله می‌شود و روی آلل پدری غیرمتیله است. ۵۰ درصد از بیماران سندرم بکویت- ویدمن از دست دادن متیلایسیون DNA روی KvDMR1 در آلل مادری را نشان می‌دهند که منجر به بیان *KCNQ1OT1* و سرکوب مهارکننده چرخه سلولی *CDKN1C* می‌شود. فنوتیپ‌های بیانگر این تغییر اپی ژنتیکی شامل امفالوسل و همی‌هیپرپلازی^۲ است. نکته قابل توجه این است که فروتنظیم *CDKN1C* در چندین سرطان دیگر گزارش شده است. پیشنهاد شده که سرکوب *CDKN1C* بر روی کروموزوم پدری با وساطت RNA طولی غیررمزکننده *KCNQ1OT1* که جایگاه اطراف را می‌پوشاند، انجام می‌شود. *KCNQ1OT1*، از طریق برهم‌کنش با هیستون

^۱. Beckwith-Wiedemann syndrome (BWS)

^۲. امفالوسل یک نقص مادرزادی است که در آن روده یا سایر اندام‌های شکمی نوزاد به دلیل سوراخی در ناحیه ناف در خارج از بدن قرار دارند روده‌ها فقط توسط یک لایه نازک از بافت پوشیده شده‌است هیپرپلازی به رشد نامتقارن بدن در یک یا چند قسمت بدن اشاره دارد.

متیل ترانسفرازهای اختصاصی H3K9 و H3K27 G9a و EZH1/2، بخش آخر کمپلکس سرکوبگر پلی کومب ۲ (فصل سوم کتاب را ببینید)، منجر به سرکوب *CDKN1C* در سیس می شود.

در حدود ۵ درصد از بیماران سندرم بکویت- ویدمن، افزایش متیلاسیون DNA روی-H19 DMR مادری به طور طبیعی غیرمتیله که ناحیه کنترل نشانه گذاری دمین IGF2/H19 است، رخ می دهد (شکل ۸-۲). H19-DMR در ۲ کیلوباز بالادست H19 قرار دارد. در سلول های طبیعی، متیلاسیون افتراقی والدینی H19-DMR منجر به بیان پدری فاکتور رشد شبه انسولین ۲ (ژن عامل رشد شبه انسولین) و بیان مادری ژن RNA غیررمزکننده H19 می شود. در آلل مادری، فاکتور رشد شبه انسولین ۲ به دلیل اتصال عامل متصل شونده به CCCTC به H19-DMR غیرمتیله سرکوب می شود. عایق تشکیل شده با عامل متصل شونده به CCCTC تشدیدکننده های پایین دست H19 را از دسترسی به پروموترهای فاکتور رشد شبه انسولین ۲ مسدود می کند (همچنین به فصل پنجم مراجعه کنید). در آلل پدری، فاکتور رشد شبه انسولین ۲ بیان می شود؛ زیرا H19-DMR متیله است که اتصال عامل متصل شونده به CCCTC را مختل می کند و منجر به تماس تشدیدکننده ها با پروموترهای فاکتور رشد شبه انسولین ۲ می شود (بل و فنسلفلد، ۲۰۰۰). افزایش متیلاسیون H19-DMR بر روی آلل مادری از بین رفتن نشانه گذاری در سندرم بکویت- ویدمن را القا می کند که منجر به بیان دوآلی فاکتور رشد شبه انسولین ۲ و کاهش بیان H19 می شود. ازدست دادن نشانه گذاری فاکتور رشد شبه انسولین ۲ همچنین یک عامل خطر برای سرطان کولورکتال است و نشانه گذاری ژنومی مختل شده به ایجاد تومور ویلمز کمک می کند. مکانیسمی که از طریق آن افزایش متیلاسیون در H19-DMR رخ می دهد، هنوز ناشناخته است.



شکل ۸-۲. ازدست دادن نشانه گذاری از طریق تغییر متیلاسیون DNA در سرطان. طرحواره نشان دهنده الگوهای نشانه گذاری نابجه در خوشه نشانه گذاری کروموزوم p15 که در بیماران مبتلا به سندرم بکویت-ویدمن یافت می شود. ازدست دادن متیلاسیون در نواحی متیله افتراقی KvDMR1 یا H19-DMR و تغییرات ناشی از آن در بیان ژن های نشانه گذاری شده نشان داده شده است. جعبه های صورتی نشان دهنده ژن های مادر هستند. جعبه های آبی ژن هایی هستند که از طریق پدر بیان می شوند. دایره سفید: CpG = غیرمتیله؛ دایره سیاه: CpG = متیله شده.

۸-۲-۴- موتاسیون‌ها در ماشین متیلاسیون DNA در سرطان‌ها

تلاش‌های توالی‌یابی ژنوم سرطان با وضوح بالا، موتاسیون‌هایی را در ژن‌های رمزکننده تنظیم‌کننده‌های اپی ژنتیکی کشف کرده‌اند که نقش نویسندگان، خوانندگان یا پاک‌کننده‌های حالت‌های متیلاسیون DNA و/یا کروماتین را دارند (همچنین به فصل اول مراجعه کنید). در این بخش، ما موتاسیون‌های در DNA متیل ترانسفراز 3a^۱ از نو و متیل سیتوزین دی اکسیژناز جابه‌جایی ۱۰-۱۱ نوع ۲ و نقش آن‌ها در سرطان را شرح می‌دهیم.

۸-۲-۴-۱- موتاسیون‌های DNA متیل ترانسفراز 3a از نو

DNA متیل ترانسفراز 3a از نو یکی از متداول‌ترین ژن‌های جهش‌یافته در طیف وسیعی از بدخیمی‌های هماتولوژیک^۲ است، به‌ویژه در لوسمی میلوئید حاد^۳ و لنفوم سلول T. موتاسیون‌های DNA متیل ترانسفراز 3A در لوسمی میلوئید حاد با فراوانی تا ۲۲ درصد یافت شد که نشان می‌دهد DNA متیل ترانسفراز 3A به‌عنوان سرکوبگر حاد تومور عمل می‌کند (یانگ و همکاران، ۲۰۱۵).

بیماران با موتاسیون DNA متیل ترانسفراز 3A بقای به‌مراتب بدتری از بیماران مبتلا به DNA متیل ترانسفراز 3A نوع وحشی داشتند. آرژنین ۸۸۲ در دمین کاتالیتیکی متیل ترانسفراز قرار دارد و نشان‌دهنده یک مکان حساس جهشی است که حدود ۶۰٪ از موتاسیون‌های DNA متیل ترانسفراز 3A در لوسمی میلوئید حاد را تشکیل می‌دهد. موتاسیون آرژنین ۸۸۲ منتهی به یک پروتئین هیپومورفیک (یعنی از دست دادن جزئی فعالیت آنزیمی) می‌شود که با مسدود کردن توانایی آن در تشکیل تترامرهای فعال که نشان‌دهنده فعال‌ترین شکل DNA متیل ترانسفراز هستند، نوع وحشی DNA متیل ترانسفراز 3A را مهار می‌کند.

مشخص شد که DNA متیل ترانسفراز 3A برای تمایز سلول‌های بنیادی خونساز^۴ ضروری است. حذف مشروط DNA متیل ترانسفراز 3a در سلول‌های بنیادی خونساز موش، خودبازسازی را نسبت به تمایز ارتقا داد و سلول‌های بنیادی خونساز با حذف کامل ژن DNA متیل ترانسفراز 3a (DNA متیل ترانسفراز KO-3a) به‌طور چشمگیری از هم‌تایان نوع وحشی خود پیشی گرفتند و در مغز استخوان تجمع پیدا کردند (شکل ۸-۳). سلول‌های بنیادی خونساز DNA متیل ترانسفراز KO-3a هیپومتیلاسیون قابل توجهی را در سطح ژنوم نشان می‌دهند.

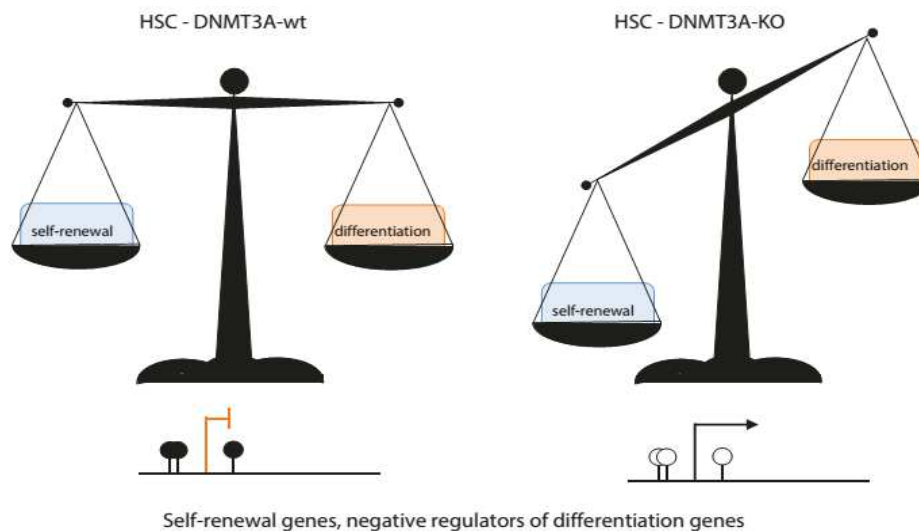
^۱. DNA methyltransferase 3a (DNMT3A)

^۲. بدخیمی‌های خونی بر اساس نوع سلول‌های خونی تحت تأثیر واقع شده، طبقه‌بندی می‌شوند.

^۳. Acute myeloid leukaemia (AML)

^۴. Hematopoietic stem cells (HSCs)

به طور خاص، تشدیدکننده‌های مرتبط با سلول بنیادی خونساز، هیپومتیلاسیون غالب را در سلول‌های بنیادی خونساز DNA متیل ترانسفراز 3a-KO نشان می‌دهند. براین اساس، سلول‌های بنیادی خونساز DNA متیل ترانسفراز 3a-KO فراتنظیم ژن‌های پرتوان سلول بنیادی خونساز و فروتنظیم عوامل تمایز را نشان می‌دهد و فرزندان آن‌ها هیپومتیلاسیون فراگیر DNA و سرکوب ناقص ژن‌های اختصاصی سلول بنیادی خونساز را نشان می‌دهند.



شکل ۳-۸: DNA متیل ترانسفراز 3A سرنوشت سلول‌های بنیادی خونساز را کنترل می‌کند. DNA متیل ترانسفراز 3A یک عامل حساس برای خاموشی اپی ژنتیکی ژن‌های تنظیم‌کننده سلول‌های بنیادی خونساز است. سلول‌های بنیادی خونساز DNA متیل ترانسفراز 3a-KO هیپومتیلاسیون جزیره CpG اساسی، افزایش ژن‌های پرتوانی سلول بنیادی خونساز و کاهش عوامل تمایز را نشان می‌دهند. ازدست‌دادن DNA متیل ترانسفراز 3A به تدریج تمایز سلول بنیادی خونساز را مختل می‌کند و تعداد سلول بنیادی خونساز را در مغز استخوان افزایش می‌دهد.

مطرح شده است که موتاسیون‌های DNA متیل ترانسفراز 3A به عنوان یک ضایعه پیش لوسمیک عمل می‌کنند؛ زیرا موتاسیون‌های DNA متیل ترانسفراز 3A سوماتیک سال‌ها قبل از ایجاد بدخیمی‌ها در سلول‌های بنیادی خونساز پدید می‌آیند. همچنین پیشنهاد شده که افزایش ظرفیت خودبازسازی سلول‌های بنیادی خونساز با موتاسیون‌های DNA متیل ترانسفراز 3A برای دومین ضربه پیش‌انکوژنی که منجر به توسعه تومور می‌شوند، مطلوب است (برونتی و همکاران، ۲۰۱۷).

موتاسیون‌های DNA متیل ترانسفراز 3A با سایر تغییرات شناخته‌شده لوسمی میلوئید حاد، مانند جابه‌جایی‌های کروموزومی (t(15;17)، t(8;21) و وارونه‌کردن inv(16)، بازآرایی‌های مربوط به هیستون‌لیزین N-متیل ترانسفراز (MLL) KMT2A و موتاسیون‌های مؤثر بر جابه‌جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲

(آنزیم مسئول DNA هیدروکسی متیلاسیون) همبستگی منفی نشان دادند (به فصل‌های اول و سوم مراجعه کنید). طرد متقابل موتاسیون‌های DNA متیل ترانسفراز 3A و این تغییرات ژنومی نقشی را در مسیرهای اپی ژنتیکی مشابه نشان می‌دهد. در مقابل، موتاسیون‌های DNA متیل ترانسفراز 3A در لوسمی میلوئید حاد با موتاسیون‌های نوکلئوفوسمین (NPM1) و تکثیر پشت‌سرهم درونی در ژن گیرنده تیروزین کیناز FLT3 ($FLT3^{ITD}$) اتفاق می‌افتد. شصت درصد از بیماران مبتلا به موتاسیون DNA متیل ترانسفراز 3A دارای موتاسیون NPM1 هستند، در حالی که تنها ۱۳ درصد از بیماران مبتلا به نوع وحشی DNA متیل ترانسفراز 3A دارای موتاسیون NPM1 هستند (یانگ و همکاران، ۲۰۱۵). به‌طور مشابه، موتاسیون‌های $FLT3^{ITD}$ به‌طور خاص در بیماران مبتلا به موتاسیون‌های DNA متیل ترانسفراز 3A غنی می‌شوند. هنگامی که بیماران مبتلا به موتاسیون‌های $FLT3^{ITD}$ بر اساس وضعیت DNA متیل ترانسفراز 3A طبقه‌بندی شدند، آن‌هایی که دارای موتاسیون DNA متیل ترانسفراز 3A بودند پیامد بدتر و نرخ عود بالایی داشتند. داده‌های توالی‌یابی اپی ژنومیک و ژنومی گسترده اخیر نشان می‌دهد که وقوع هر سه موتاسیون غیر تصادفی است و $NPM1^{mut}/FLT3^{ITD}/DNMT3A^{mut}$ AML یک موجودیت متمایز است (اطلس ژنوم سرطان ۲۰۱۳). با این حال، این که چگونه این موتاسیون‌ها با هم برای ایجاد لوسمی عمل می‌کنند، مبهم باقی مانده است. سلول‌های بنیادی خونساز با موتاسیون DNA متیل ترانسفراز 3A حتی پس از شیمی درمانی و در طول عود نیز باقی می‌مانند که نشان می‌دهد سلول‌های بنیادی خونساز جهش‌یافته ممکن است مخزنی برای تکامل مجدد بیماری در یک عود باشند.

۸-۲-۲- موتاسیون‌های جابه‌جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲

موتاسیون‌های سوماتیک در ژن جابه‌جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲ اغلب در طیف گسترده‌ای از بدخیمی‌های خونی، از جمله لوسمی میلوئید حاد، سندرم میلودیسپلاستیک^۱، لوسمی میلومونوسیتی مزمن^۲ و نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو^۳ شناسایی شده است. به‌طور خاص، حذف‌های سوماتیک و موتاسیون‌های غیرفعال در جابه‌جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲ در ۱۰-۲۰٪ موارد نئوپلاسم‌های میلوپرولیفراتیو و سندرم میلودیسپلاستیک و در ۷-۲۳٪ موارد لوسمی میلوئید حاد شناسایی شد. جابه‌جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲ متعلق به خانواده‌ای از سه پروتئین (جابه‌جایی ۱۱-۱۰ نوع ۱، جابه‌جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲، جابه‌جایی ۱۱-۱۰ نوع ۳) است که اکسیداسیون متوالی ۵-متیل‌سیتوزین به ۵-هیدروکسی‌متیل‌سیتوزین، ۵-فرمیل‌سیتوزین و ۵-کربوکسیل‌سیتوزین را کاتالیز می‌کند در نهایت منجر به جایگزینی

^۱. Myelodysplastic syndrome (MDS)

^۲. Chronic myelomonocytic leukemia (CMML)

^۳. Myeloproliferative neoplasms (MPN)

۵- متیل سیتوزین با یک سیتوزین تغییر نیافته می شود (به فصل اول مراجعه کنید). موتاسیون های جابه جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲ مرتبط با این بیماری عمدتاً موتاسیون هایی با ازدست دادن عملکرد هستند که فعالیت آنزیمی را مختل می کنند و منجر به ناکامی در تبدیل ۵- متیل سیتوزین به ۵- هیدروکسی متیل سیتوزین می شود و در نهایت دمتیلاسیون DNA را مختل می کنند. مطالعات بر روی موش نشان داده است که ازدست دادن جابه جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲ منجر به افزایش خودنوسازی سلول های بنیادی خونساز و میلوپرولیفراسیون (توسعه یک سلول بنیادی اجدادی خونساز پر توان) پیش رونده، با ویژگی های مشخصه لوسمی میلو مونوسیتی مزمن انسانی می شود؛ بنابراین، به نظر می رسد که تبدیل ۵- متیل سیتوزین به ۵- هیدروکسی متیل سیتوزین مختل شده، تسلط کلونال را به سلول های بنیادی خون ساز اعطا می کند و فشار تمایز را به سمت دودمان میلوئیدی اعمال می کند. همانند مورد DNA متیل ترانسفراز 3A، موتاسیون ها در جابه جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲ پیش لوسمی در نظر گرفته می شود، زیرا موتاسیون به خودی خود باعث ایجاد بدخیمی های خونی نمی شود، بلکه این اتفاق در ارتباط با سایر موتاسیون های محرک رخ می دهد. خزانه سلول های بنیادی خون ساز پیش لوسمی حاوی موتاسیون هایی در تنظیم کننده های اپی ژنتیکی، مانند جابه جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲ یا DNA متیل ترانسفراز 3A، به عنوان یک مخزن سلولی در نظر گرفته شده است که باید از نظر درمانی برای بهبودی پایدارتر هدف قرار داده شود.

بررسی های متیلاسیون در سطح ژنوم، هایپرمتیلاسیون CpG بسیاری از عناصر تشدید کننده فعال را در بیماران لوسمی میلوئید حاد انسانی با موتاسیون جابه جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲ نشان داد و نتایج مشابه با استفاده از مدل موش لوسمی وابسته به جابه جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲ به دست آمد. ازدست دادن ۵- هیدروکسی متیل سیتوزین و افزایش متیلاسیون در این عناصر تشدید کننده منجر به کاهش H3K27ac و فروتنظیم ژن های همسایه، از جمله ژن های سرکوب کننده تومور می شود. آنزیم های جابه جایی ۱۱-۱۰، دی اکسیژناز های وابسته به آلفا - کتو گلو تارات Fe(II)/ هستند. ایزوسیترات دهیدروژناز های^۱ ایزوسیترات دهیدروژناز نوع ۱، ایزوسیترات دهیدروژناز نوع ۲، ایزوسیترات دهیدروژناز نوع ۳ آنزیم هایی هستند که آلفا - کتو گلو تارات تولید می کنند. مطالعات توالی یابی ژنومی، موتاسیون در ایزوسیترات دهیدروژناز نوع ۱ و ایزوسیترات دهیدروژناز نوع ۲ را در چندین سرطان، از جمله لوسمی میلوئید حاد شناسایی کردند. موتاسیون های ایزوسیترات دهیدروژناز ۷۲ می توانند انکومتابولیت جدید D-۲- هیدروکسی گلو تارات^۲ را از آلفا - کتو گلو تارات تولید کنند. D-۲- هیدروکسی گلو تارات آنزیم های وابسته به آلفا - کتو گلو تارات مانند جابه جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲ را مهار می کند. در لوسمی میلوئید حاد، موتاسیون های جابه جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲ و ایزوسیترات دهیدروژناز ۷۲

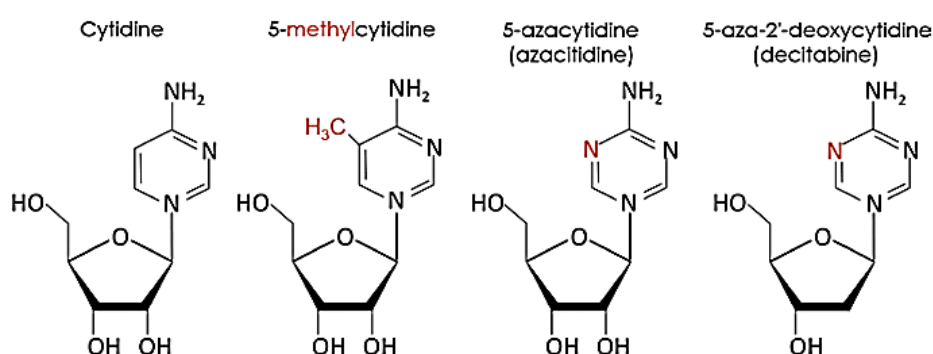
^۱. Isocitrate dehydrogenases (IDH1)

^۲. D-2-hydroxyglutarate (D2HG)

متقابلاً منحصربه‌فرد هستند که نشان می‌دهد مسیر IDH1/2-TET2 برای سرکوب لوسمی میلوئید حاد عمل می‌کند. نقش و عملکرد آلفا-کتو گلوئارات و ایزوسیترات‌دهیدروژناز در شرایط فیزیولوژیکی و پاتولوژیک در فصل نهم کتاب توضیح داده شده است.

۸-۲-۵- مهارکننده‌های اپی ژنتیک DNA متیل ترانسفرازها در درمان سرطان

دو مهارکننده DNA متیل ترانسفرازها، 5-آزاسیتیدین (آزاسیتیدین) و 5-آزا-۲-داسی سیتیدین (دسیتابین)، برای استفاده بالینی در بدخیمی‌های خونی مانند سندرم میلودیسپلاستیک، لوسمی میلوئید حاد و لوسمی میلومونوسیتی مزمن تأیید شده است (شکل ۸-۴). آزاسیتیدین و دسیتابین آنالوگ‌های نوکلئوتیدی هستند. آزاسیتیدین را می‌توان به RNA و DNA وارد کرد درحالی‌که دسیتابین فقط در DNA گنجانده می‌شود. به‌طور خاص، این آنالوگ‌های نوکلئوتیدی را می‌توان طی همانندسازی DNA به جای سیتوزین وارد کرد.

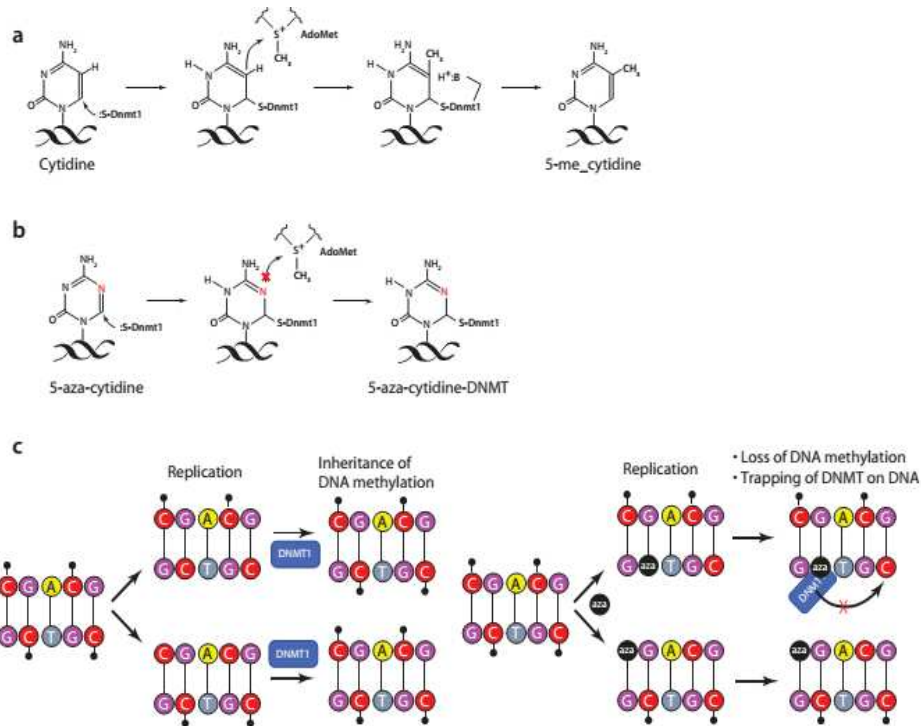


شکل ۸-۴: مهارکننده‌های DNA متیل ترانسفراز. ساختار شیمیایی نوکلئوزید سیتیدین و مهارکننده‌های DNA متیل ترانسفرازها، آزانوکلئوزیدها.

حفظ متیلاسیون DNA پس از عبور از چنگال همانندسازی رخ می‌دهد که در آن DNA نیمه متیله تولید می‌شود که سپس توسط DNA متیل ترانسفراز 1 در رشته مخالف متیله می‌شود (به فصل اول کتاب مراجعه کنید). واکنش DNA متیل ترانسفرازها شامل حمله به موقعیت C6 حلقه پیریمیدین سیتوزین است که منجر به تشکیل یک کمپلکس کووالانسی حدواسط DNMT-DNA و به دنبال آن تشکیل ۵-متیل سیتوزین می‌شود (شکل ۸-۵). با این حال، در مورد آزاسیتیدین یا دسیتابین، جایگزینی کربن با یک گروه آزا، انتقال گروه متیل به موقعیت C-5 را مختل می‌کند (شکل ۸-۵). در نتیجه، واکنش متوقف می‌شود، DNA متیل ترانسفراز به‌صورت کووالانسی روی DNA به

دام می افتد؛ و بازسازی و حفظ متیلاسیون پس از عبور از چنگال همانندسازی مختل می شود؛ بنابراین، درمان با مهارکننده های DNA متیل ترانسفراز منجر به فرایند غیرفعال دمتیلاسیون DNA می شود (به فصل اول کتاب مراجعه کنید).

آزاسیتیدین اولین درمانی است که مزایای بقای بیماران مبتلا به سندرم میلودیسپلاستیک را نشان داده است (فناکس و همکاران، ۲۰۰۹). با این حال، مکانیسم های مولکولی حاکم بر پاسخ های چشمگیر مشاهده شده در سندرم میلودیسپلاستیک تا حد زیادی ناشناخته هستند. توجه به این نکته مهم است که علاوه بر اثر دمتیله کنندگی این ترکیبات، به دام انداختن پروتئین های DNA متیل ترانسفراز بر روی DNA نیز ممکن است به طور غیرمستقیم به اثر ضد سرطانی کمک کند. اخیراً، هم چنین نشان داده شده است که درمان با مهارکننده های DNA متیل ترانسفراز، پیام دهی ایمنی را در سلول های سرطانی از طریق فراتنظیم طیف گسترده ای از ژن های دخیل در پیام دهی ایمنی و افزایش تعداد سلول های ایمنی در ریزمحیط تومور القا می کند. خاموشی رونویسی با واسطه متیلاسیون DNA نیز به استخدام سرکوبگرهای کمکی و داستیلاسیون یا متیلاسیون علائم هیستون در پروموتورها و تقویت کننده ها مرتبط است. براین اساس، استفاده ترکیبی از مهارکننده های DNA متیل ترانسفراز و هیستون داستیلازها (شرح داده شده در پاراگراف بعدی) نشان داد که فعال سازی مجدد ژن های خاموش شده نابه جا در سلول های تومور را تشدید می کند و باعث کاهش فشار تومور می شود.



شکل ۸-۵: طرحی که عمل مهارکننده‌های DNA متیل ترانسفراز را نشان می‌دهد. **a** واکنش DNA متیل ترانسفرازها شامل حمله به موقعیت C6 حلقهٔ پیریمیدین سیتوزین است که منجر به تشکیل حدواسط یک کمپلکس کووالانسی DNMT-DNA و به دنبال آن تشکیل ۵-متیل سیتوزین می‌شود. متیلاسیون موقعیت C5 جابه‌جایی الکترون‌ها و آزاد شدن آنزیم را القا می‌کند. **b** در مورد آزاسیتیدین یا دسیتابین، جایگزینی کربن با گروه آزا، انتقال گروه متیل به موقعیت C-5 را مختل می‌کند. در نتیجه، واکنش متوقف می‌شود و DNA متیل ترانسفراز به‌صورت کووالانسی روی DNA به دام می‌افتد. **c** به دلیل ماهیت نیمه‌محافظه‌کارانهٔ همانندسازی DNA، یک توالی DNA که دارای علائم متیلاسیون متقارن در هر دو رشته است، باعث ایجاد دو رشتهٔ دوتایی همی‌متیله می‌شود که می‌توانند با DNA متیل ترانسفراز DNA متیل ترانسفراز 1 به حالت کاملاً متیله بازیابی شوند. آزاسیتیدین و دسیتابین را می‌توان طی همانندسازی به DNA وارد کرد. درمان با این ترکیبات منجر به از دست دادن فعالیت DNA متیل ترانسفراز می‌شود؛ زیرا آنزیم به‌طور غیر قابل برگشتی به باقی‌مانده‌های آزا در DNA متصل می‌شود و دیگر برای کاتالیز بیشتر در دسترس نیست. از دست دادن متیلاسیون DNA نتیجهٔ رقیق شدن متیلاسیون DNA در طول چند دور همانندسازی DNA (دمتیلاسیون غیرفعال DNA) است که منجر به فعال‌سازی رونویسی ژن‌هایی می‌شود که قبلاً با متیلاسیون DNA خاموش شده‌اند.

۸-۳- پروتئین‌های گروه پلی کومب و سرطان

در فصل سوم (حافظه سلولی)، شما آموخته‌اید که پروتئین‌های گروه پلی کومب عمدتاً به عنوان اعضای دو کمپلکس بزرگ چند زیرواحدی (کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ و کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱) عمل می‌کنند. کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱ مونوئوبی کوئیتیناسیون هیستون H2A را در لیزین ۱۱۹ (H2AK119ub1) کاتالیز می‌کند، در حالی که کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ تری متیلاسیون هیستون H3 را در لیزین ۲۷ (H3K27me3) کاتالیز می‌کند (به فصل سوم کتاب مراجعه کنید). هر دوی این تغییرات پس از ترجمه هیستون‌ها با خاموشی رونویسی مرتبط هستند. نشان داده شده است که پروتئین‌های گروه پلی کومب فرایندهای زیستی متنوعی را در طول رشد جنینی مانند سرنوشت سلولی و تصمیم‌گیری دودمان، حافظه سلولی، عملکرد سلول‌های بنیادی، هموستاز بافت و باززایی را تنظیم می‌کنند. به دلیل نقش پروتئین‌های گروه پلی کومب در بسیاری از فرایندهای سلولی کلیدی، اکنون جای تعجب نیست که تغییرات در ماشین‌های گروه پلی کومب اغلب در چندین سرطان یافت شده است. این تغییرات شامل موتاسیون و بیان افتراقی نویسنده‌ها و پاک‌کن‌های H3K27me3 (۸-۳-۱) و موتاسیون‌ها در ژن‌های رمز کننده هیستون H3 (۸-۳-۲) است.

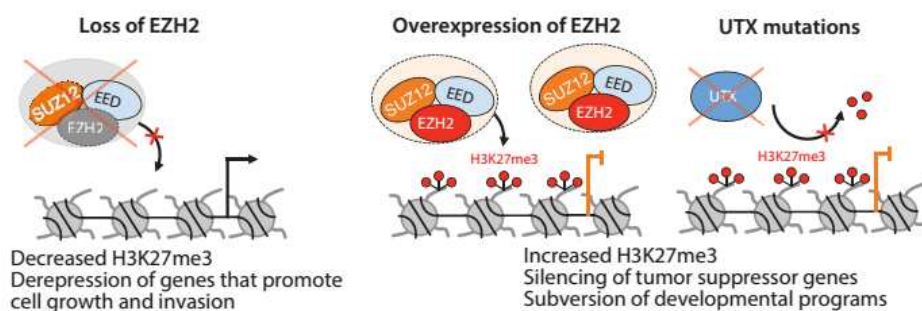
۸-۳-۱- تغییرات فعالیت گروه پلی کومب در سرطان

چندین پروتئین گروه پلی کومب به طور متفاوتی در تومورها در مقایسه با بافت طبیعی متناظر بیان می‌شوند (شکل ۸-۶). اجزای کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ (سرکوب کننده زست^۱ و تشدید کننده هومولوگ زست ۲) و جزء BMI1 کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ (به فصل سوم کتاب مراجعه کنید) اغلب در چندین بدخیمی با افزایش بیان و فنوتیپ تهاجمی، یافت می‌شوند. به طور خاص، بیش از نیمی از سرطان‌های پروستات مقاوم به هورمون که نشان دهنده سرطان در مراحل آخر هستند، تقویت ژن تشدید کننده هومولوگ زست ۲ را نشان می‌دهند که زیرواحد کاتالیتیک کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲ مسئول H3K27me3 را رمز می‌کند. این تقویت منجر به افزایش بیان پروتئین تشدید کننده هومولوگ زست ۲ می‌شود که در نتیجه چشم انداز ژنومی H3K27me3 را تغییر می‌دهد. میزان بالای BMI1 و تشدید کننده هومولوگ زست ۲، بیماری پیشرفته و پیش‌آگهی ضعیف را در چندین نوع سرطان انسانی پیش‌بینی می‌کند. به طور خاص، میزان تشدید کننده هومولوگ زست ۲ یک عامل مهم برای ارزیابی پیشرفت و پیش‌آگاهی سرطان پروستات است.

¹. Suppressor of zeste (SUZ12)

². Enhancer of zeste homolog 2 (EZH2)

سرطان‌ها هم‌چنین چندین موتاسیون نادرست گروه پلی‌کومب و جابه‌جایی‌های کروموزومی را نشان می‌دهند. به‌عنوان مثال، موتاسیون‌های هتروزیگوت جایگزینی یک تیروزین منفرد در دمین کاتالیتیک SET پروتئین تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ (Tyr641) در ۲۱/۷٪ از بیماران مبتلا به لنفوم سلول B منتشر و ۷/۲٪ با لنفوم فولیکولی رخ می‌دهد. این موتاسیون فعالیت کاتالیتیکی تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ را با مهار تک‌متیلاسیون H3K27 و افزایش کارایی کاتالیتیکی برای واکنش‌های بعدی دی و دی به تری‌متیلاسیون (جهش‌یافته‌های تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ بیش‌فعال) تغییر می‌دهد. علاوه‌براین، پروتئین‌های گروه پلی‌کومب می‌توانند به‌طور فیزیکی با تعدادی از عوامل رونویسی تلفیقی نشأت‌گرفته از جابه‌جایی‌ها، مانند لوسمی پرومیلوسیتیک گیرنده α رتینوئیک اسید- انگشت روی^۱ که همراه با کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ خاموشی رونویسی ژن‌های هدف را القا می‌کنند، برهم‌کنش داشته باشند که به‌موجب آن واسطه تبدیل لوسمی می‌شوند. مطابق با نقش حیاتی تنظیم H3K27me3 در سرطان‌ها، موتاسیون‌های سوماتیک غیرفعال‌کننده در ژن هیستون لیزین دمتیلاز UTX (KDM6A) نیز در چندین سرطان یافت شده است که در نتیجه میزان بالای H3K27me3 را نشان دادند.



۸-۶: تغییرات فعالیت گروه پلی‌کومب در سرطان. تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ زیرواحد کاتالیتیک کمپلکس سرکوب‌کننده پلی‌کومب ۲ است که حاوی سرکوب‌کننده زست و EED نیز است. موتاسیون‌های ازدست‌دادن عملکرد در ژن تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ میزان H3K27me3 را کاهش می‌دهد و بیان ژن‌های دخیل در رشد و تهاجم سرطان را فعال می‌کند و پیش‌آگاهی بدی دارد. تقویت تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ یا موتاسیون‌هایی که منجر به بیش‌فعال شدن آن می‌شود، H3K27me3 را افزایش می‌دهد، در نتیجه ژن‌های سرکوبگر تومور را خاموش می‌کند و حالتی شبیه سلول‌های بنیادی سرطانی را ایجاد می‌کند. به‌طور مشابه، موتاسیون‌های غیرفعال‌کننده در ژن هیستون دمتیلاز UTX باعث افزایش H3K27me3 می‌شود.

¹. Promyelocytic leukemia zinc finger-retinoic acid receptor α (PLZF-RAR α)

اگرچه نقش کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۲ در سرطان عمدتاً با H3K27me3 و سرکوب رونویسی مرتبط است، ولی مواردی از عملکردهای اضافی و غیرکلاسیک وجود دارد. به عنوان مثال، در سرطانهای پروستات مقاوم به اخته^۱ (یعنی سرطانهایی که به درمان محرومیت از آندروژن پاسخ نمی دهند و از این رو بیانگر آخرین و تهاجمی ترین مرحله بیماری هستند)، تشدید کننده هومولوگ زست^۲ به عنوان یک فعال کننده برای عوامل مهم رونویسی عمل می کند. این تغییر عملکردی وابسته به فسفریلاسیون تشدید کننده هومولوگ زست^۲ در Ser21 است که برهم کنش با گیرنده آندروژن و فعال سازی ژنهای هدف گیرنده آندروژن را که برای پیشرفت بیماری حیاتی هستند، ارتقا می دهند (Xu et al., 2012).

از آنجایی که پروتئینهای گروه پلی کومب برای حفظ ویژگیهای مشابه سلولهای بنیادی بالغ و همچنین سلولهای بنیادی جنینی هستند، پیشنهاد شده است که میزان غیرعادی افزایش یافته پروتئینهای گروه پلی کومب ممکن است منجر به تولید و حفظ سلولهای بنیادی سرطانی شود. تومورها از جمعیتهای ناهمگن سلولی تشکیل شده اند که از نظر ویژگیهای فنوتیپی و ژنتیکی متفاوت هستند. پیشنهاد شده است که ناهمگنی سلولی در یک تومور به صورت سلسله مراتبی سازماندهی می شود. به طور خاص، شواهد حاکی از وجود زیرجمعیت کوچکی از سلولهای بنیادی سرطانی با ویژگیهای شبیه سلولهای بنیادی است که باعث ایجاد دودمان سلولهای سرطانی ناهمگن می شود و برای حفظ مخزن^۲ خود، خودنوسازی می کنند. سلولهای بنیادی سرطانی ظرفیت افزایش یافته ای برای مقاومت درمانی، فرار سیستم ایمنی، تهاجم و متاستاز دارند (پراگر و همکاران، ۲۰۱۹).

در سلولهای بنیادی جنینی پرتوان، کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۱ و کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۲ به پروموتورهای ژنهای رمز کننده تنظیم کننده های فرایندهای تکوینی متصل می شوند که باید برای حفظ خودنوسازی سلولهای بنیادی جنینی خاموش بمانند. طی تمایز سلولهای بنیادی جنینی، عوامل گروه پلی کومب از این ژنهایی که فعال می شوند و به موجب آن برنامه های رونویسی جدیدی را برای اطمینان از تمایز مناسب اعمال می کنند، حذف می شوند. علاوه بر این، پروتئینهای گروه پلی کومب برای تعیین سرنوشت سلول مورد نیاز است؛ زیرا زمانی که سلولها به سمت یک دودمان سلولی خاص تمایز پیدا می کنند، آنها سرنوشت های جایگزین را محدود می کنند. از آنجایی که کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۲ برای متعادل کردن تکثیر در مقابل

^۱. Castration-resistant prostate cancers (CRPCs)

^۲. سلولهای بنیادی در بافت های طبیعی عموماً به عنوان سلولهای تمایز نیافته تعریف می شوند؛ که توانایی تولید سلولهای نهایی تخصصی یک بافت؛ و همچنین خود نوسازی را برای حفظ مخزن خود دارند (سلولهای بنیادی خونساز را ببینید) بر اساس قیاس، سلولهای بنیادی سرطانی توانایی خودنوسازی؛ و تولید؛ و ساکن کردن مجدد جمعیت سلولی بدخیم را دارند.

تمایز مهم است، نشان داده شده است که کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۲ یک فنوتیپ تمایززدایی شده در چندین سرطان را ارتقا می دهد (به فصل سوم کتاب مراجعه کنید). افزایش فعالیت کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۲ در سلول های بنیادی یا اجدادی ممکن است با سرکوب ژن های تمایز یا ژن های کنترل کننده تکثیر سلولی، مانند *CDKN2A*، خودنوسازی را بیشتر از تمایز، ارتقا دهد (لاگسن و همکاران، ۲۰۱۶). به عنوان مثال، افزایش میزان تشدید کننده هومولوگ زست ۲ منجر به رشد تومورهای یواینگ^۱ و مهار چشمگیر تمایز اندوتلیال و نورواکتودرمال شد. نقش مهم پروتئین های گروه پلی کومب در سرطان، آن ها را به اهداف جذابی برای درمان سرطان تبدیل می کند.

۸-۳-۲- موتاسیون های مؤثر بر لیزین ۲۷ هیستون H3 در سرطان های متعدد رخ می دهد

مطابق با نقش حیاتی تغییر فعالیت کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۲، موتاسیون در سوپسترا (لیزین ۲۷ هیستون H3) نیز در سرطان ها گزارش شده است. توالی یابی کل ژنوم گلیوم های گرید بالا در کودکان، موتاسیون های افزایش عملکرد را در ژن های هیستون H3، به ویژه هیستون A^۳ (*H3F3A*) و هیستون H3B (*HIST1H3B*) شناسایی کرده است که به ترتیب انواع هیستون H3.3، H3.1 و H3 را رمز می کنند (اشوارفزنتر و همکاران، ۲۰۱۲). در ۷۸٪ از گلیوماهای پونتین درونی منتشر کودکان^۲ و در ۲۲٪ از گلیوبلاستوماهای غیرساقه مغز در کودکان^۳، ژن های *H3F3A* یا *HIST1H3B* دارای جهشی هستند که منجر به تعویض لیزین ۲۷ با متیونین می شود (*H3K27M*). موتاسیون های سوماتیک در *H3F3A* که گلیسین ۳۴ را با آرژنین (*H3G34R*) جایگزین می کند، در ۱۴ درصد از non-BS-PG ها نیز یافت شد.

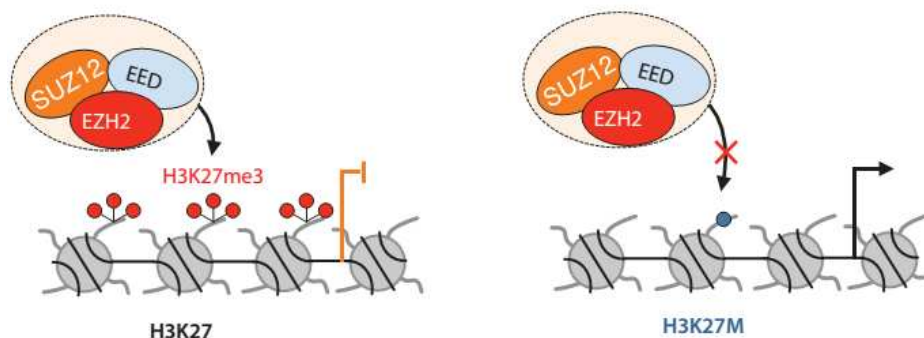
تومورهای موتاسیون یافته *H3K27M* اغلب در تالاموس، پونز و نخاع یافت می شوند و پیش آگاهی ضعیفی از خود نشان می دهند در حالی که موتاسیون های *H3G34R* در تومورهای نیمکره های مغزی دیده می شوند که نشان دهنده منشأ سلولی متفاوتی برای این تومورها است. در سطح مولکولی، *H3K27M* فعالیت آنزیمی کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۲ را از طریق برهم کنش با زیر واحد تشدید کننده هومولوگ زست ۲ مهار می کند و باعث کاهش عمیق میزان *H3K27me3* نوع وحشی می شود (لوئیس و همکاران، ۲۰۱۳) (شکل ۸-۷).

(سرطان یواینگ نوعی سرطان است؛ که با رشد سلول ها در استخوان ها؛ و بافت نرم اطراف استخوان ها شروع Ewing tumors^۱ می شود)

^۲. Paediatric diffuse intrinsic pontine gliomas (DIPGs)

^۳. Non-brainstem paediatric glioblastomas (non-BS-PGs)

تصور می‌شود که تغییر در میزان H3K27me3 باعث ایجاد یک برنامه رونویسی می‌شود که به شروع و پیشرفت تومور کمک می‌کند. کاهش شدید H3K27me3 در تومورهای H3K27M کاملاً قابل توجه است؛ زیرا ژنوم انسان دارای ۱۶ ژن رمزکننده هیستون H3 مجزا است و تنها یکی از دو ژن‌های H3F3A دارای موتاسیون H3K27M است؛ بنابراین، موتاسیون K27M فقط یک ژن هیستون H3 باعث کاهش شدید H3K27me3 در سایر هیستون‌های نوع وحشی H3 می‌شود که در سلول‌های دیپلوئیدی توسط ۳۱ ژن رمزگذاری می‌شوند. نکته مهم این است که همزمان با کاهش H3K27me3، میزان علامت فعال H3K27ac افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده تغییر در چشم‌انداز اپی ژنتیک تومورهای H3K27M و فعال‌سازی ژن‌های مرتبط با تکثیر است.



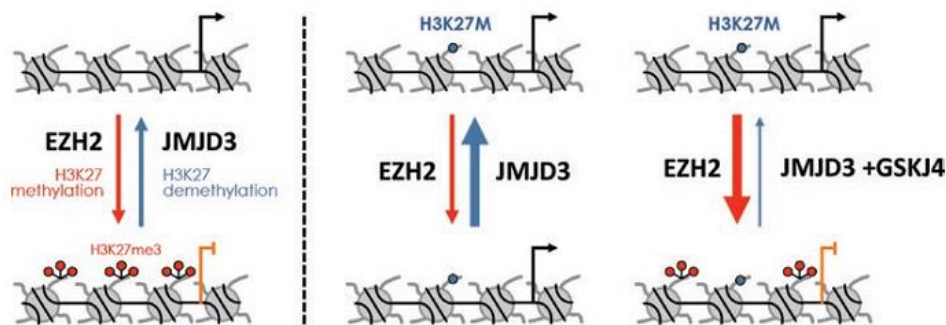
شکل ۸-۷: موتاسیون‌های H3K27M در ژن‌های رمزکننده انواع هیستون H3.3 و H3.1. موتاسیون‌های H3K27M به‌طور مکرر در گلیومای با گرید بالا (HGG) و گلیومای پونتین درونی منتشر یافت می‌شوند. موتاسیون‌های K27M در ژن‌های رمزکننده انواع هیستون H3.3 و H3.1 منجر به کاهش فراگیر میزان H3K27me3 می‌شود که منتهی به سرکوب ژن‌های هدف کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۲ می‌شود.

چندین فرضیه برای توضیح اینکه چگونه H3K27M فعالیت کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۲ را مختل می‌کند، وجود دارد. پیشنهاد شده است که H3K27M ممکن است کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۲ را به کروماتین جذب کرده و فعالیت آن را مهار کند. ساختار کریستالی و سنجش‌های بیوشیمیایی آزمایشگاهی نشان داد که کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۲ میل پیوندی بالایی برای هیستون‌های جهش‌یافته H3K27M دارد که منجر به توقف کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۲ و جلوگیری از انتشار علامت H3K27me3 می‌شود. علاوه بر این، بررسی‌های بیوشیمیایی آزمایشگاهی نشان داد که فعالیت کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۲ توسط دی‌نوکلئوزوم‌های متشکل از H3K27M-H3K27me3 مهار می‌شود. از سوی دیگر، همچنین پیشنهاد شده است که

H3K27M ممکن است کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۲ را از کروماتین جدا کند. در واقع، H3K27M با مناطق کروماتین غنی شده H3K27ac در ارتباط است، درحالی که کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۲ از این مناطق جدا می شود. این نتایج از مدلی پشتیبانی می کند که در آن H3K27M مانع اتصال کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۲ می شود که بنابراین تجمع نابه جای H3K27ac در نوکلئوزوم های حاوی H3 نوع وحشی و H3K27M جهش یافته را القا می کند. بیشتر نوکلئوزوم های هتروپپی H3K27M-H3K27ac در ژن های رونویسی شده فعال یافت شدند و با پروتئین دارای برومودمین^۲ و پروتئین دارای برومودمین^۴ که بخشی از خانواده پروتئین برومودمین و موتیف اکسترا ترمینال^۱ هستند، هم مکان شدند. پروتئین های دارای برومودمین، بیان ژن را عمدتاً از طریق شناسایی رزیدیوهای استیل هیستون تنظیم می کنند که منجر به کارگیری کمپلکس های پروتئینی می شود که بیان ژن را تعدیل می کنند (همچنین به ۸-۴-۲ مراجعه کنید). توسعه بازدارنده های خوانندگان اپی ژنتیک به عنوان عوامل ضد سرطان اکنون یک حوزه تحقیقاتی جدی است. به طور خاص، بازدارنده انتخابی مولکول کوچک *JQ1* به طور رقابتی به برومودمین ها متصل می شود و اتصال آن ها را به هیستون های استیله مختل می کند (Qi 2014). ارتباط پروتئین های دارای برومودمین^۲ و پروتئین دارای برومودمین^۴ با نواحی کروماتین غنی شده در نوکلئوزوم های هتروپپی H3K27M-H3K27ac نقش بالقوه پروتئین های برومودمین را در پاتوژن گلیوماهای پونتین درونی منتشر کودکان نشان داد. بر این اساس، درمان با JQ1 به شدت از تکثیر سلول های H3K27M-DIPG در داخل بدن جلوگیری می کند و موش های زنگرافت^۲ DIPG8 بقای قابل توجهی را نشان می دهند که پروتئین های موتیف اکسترا ترمینال را به عنوان اهداف بالقوه درمانی H3K27M-DIPG شناسایی می کنند. همچنین پیشنهاد شده است که افزایش H3K27me3 در H3K27M-DIPG ممکن است یک استراتژی درمانی مؤثر باشد. این امر با تشدید فعالیت متیل ترانسفراز کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب^۲ یا مهار فعالیت دمتیلاز H3K27 می تواند به دست آید. H3K27me3 می تواند توسط زیرخانواده KDM6 دمتیلازهای K27, JMJD3 و/یا UTX دمتیله شود. بر این اساس، درمان با بازدارنده هیستون دمتیلاز JMJD3 K27, GSKJ4 دمتیلاسیون سلولی H3K27 را در سلول های تومور H3K27M-DIPG مشتق شده از بیمار افزایش یافت و فعالیت ضدتوموری قوی را هم در شرایط آزمایشگاهی علیه سلول های H3K27M و هم در داخل بدن در برابر پیوندهای زنگرافت H3K27M-DIPG نشان داد (شکل ۸-۸).

^۱. Extra-Terminal motif (BET)

^۲. زنگرافت موش یکی از پرکاربردترین مدل ها در زیست شناسی سرطان است در این مدل، سلول های تومور انسانی، یا در زیر پوست یا به نوع اندامی که تومور از آن منشأ گرفته است، به موش های دارای نقص ایمنی که سلول های انسانی را پس نمی زنند، پیوند می شوند.



شکل ۸-۸: متیلاسیون و دمتیلاسیون H3K27. پنل سمت چپ. تشدیدکننده هومولوگ زست ۲، جزء کاتالیزوری کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲، H3K27 را متیله می کند و به سرکوب رونویسی کروماتین کمک می کند. در مقابل، JMJD3 یا UTX دمتیلازهایی هستند که گروه های متیل را از H3K27 حذف می کنند و یک حالت کروماتین باز و فعال رونویسی ایجاد می کنند. پنل سمت راست. H3K27M فعالیت تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ را با کاهش میزان H3K27me3 و فعال سازی رونویسی غیرفعال می کند. مهار دارویی دمتیلاز JMJD3 توسط GSKJ4 باعث افزایش متیلاسیون در نوع وحشی H3K27 و مهار بیان ژن می شود. درمان با GSKJ4 فعالیت ضدتوموری قوی در سلول های تومور H3K27M را نشان داد.

۸-۳-۳- مهارکننده های تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ در درمان سرطان

از آن جایی که ثابت شده است که پروتئین های گروه پلی کومب نشانگر سلول های بنیادی سرطانی هستند، پروتئین های گروه پلی کومب به اهداف جذابی برای پیشگیری و درمان سرطان تبدیل شدند. مهارکننده هایی که فعالیت تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ را هدف قرار می دهند توسعه یافته اند. سه تا از این مهارکننده ها (GSK126، تازمتوستات و CPI-1205) اکنون تحت آزمایشات بالینی فاز I یا II هستند. GSK126 یک رقیب S-ادنوزیل متیونین و یک مهارکننده بسیار انتخابی تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ است. با این حال، این بازدارنده ها برای موتاسیون های بیش فعال تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ که دارای موتاسیون در پاکت اتصال به بستر هستند، انتخابی نیستند (لاگسن و همکاران، ۲۰۱۶)؛ بنابراین، هدف قراردادن تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ ممکن است یک استراتژی درمانی مربوط به سرطان هایی باشد که انواع جهش یافته بیش فعال تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ را بیان نمی کنند.

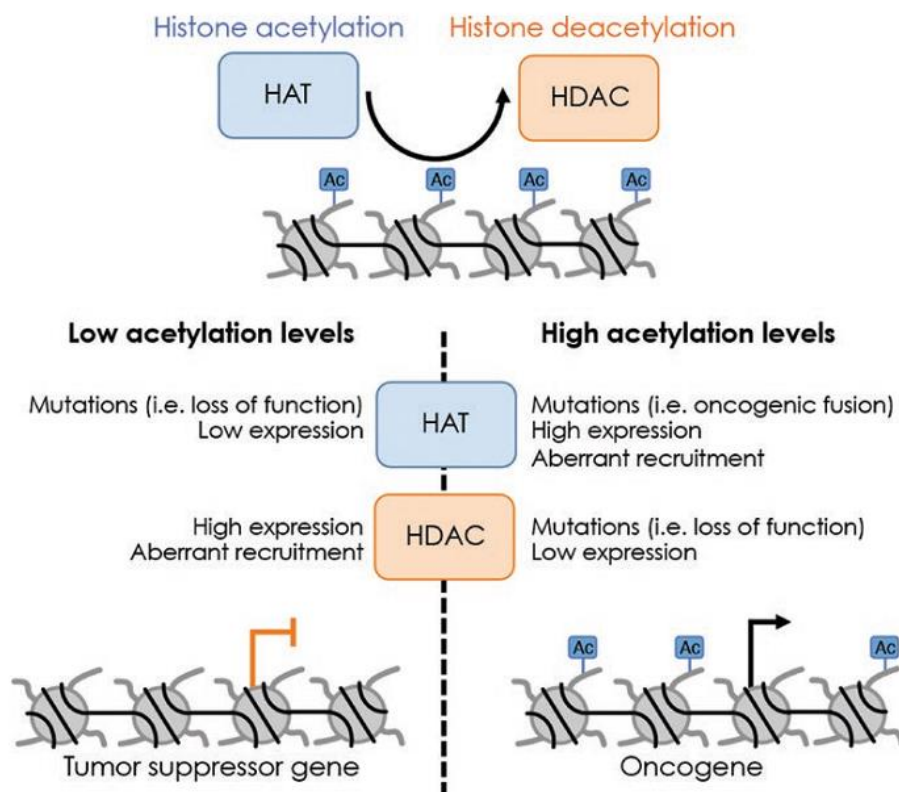
۸-۴- استیلاسیون و داستیلاسیون هیستون در سرطان‌ها

هیستون استیل ترانسفرازها^۱ طبقه‌ای از آنزیم‌ها هستند که گروه‌های استیل را از کوفاکتورهای استیل-CoA به رزیدیوهای لیزین در هیستون‌ها منتقل می‌کنند (به فصل اول و هفتم کتاب مراجعه کنید). استیلاسیون هیستون یک فرایند بسیار برگشت‌پذیر است؛ زیرا هیستون داستیلازها^۲ با حذف گروه استیل به‌عنوان پاک‌کن عمل می‌کنند. استیلاسیون هیستون با رونویسی فعال به‌ویژه در پروموتورها و تشدیدکننده‌ها در ارتباط است و به‌کارگیری کمپلکس‌های همراه تنظیم‌کننده‌ها و RNA پلیمراز II را تسهیل می‌کند. در مقابل، هیستون داستیلازها معمولاً باعث سرکوب ژن می‌شوند. همان‌طور که در بخش قبل بحث شد، گروه استیل با پروتئین‌های دارای برومودمین که به نوبه خود، اغلب عوامل مرتبط با فعال‌سازی رونویسی را به‌خدمت می‌گیرد، می‌تواند شناسایی شود.

اختلال در تعادل بین استیلاسیون و داستیلاسیون می‌تواند بر بیان ژن تأثیر بگذارد. این وضعیت اغلب در سرطان‌هایی با الگوهای استیلاسیون تغییر یافته، مشاهده می‌شود. تغییرات در تعادل استیلاسیون/ داستیلاسیون می‌تواند به‌دلیل به‌کارگیری غیرطبیعی هیستون داستیلازها یا کاهش فعالیت هیستون استیل ترانسفرازها باشد که منجر به سرکوب ژن‌های سرکوبگر تومور می‌شود. از سوی دیگر، همچنین افزایش فعالیت هیستون داستیلازها را با فعال‌سازی متعاقب آنکوژن‌ها می‌توان ایجاد کرد (شکل ۸-۹). این مکانیسم‌ها می‌توانند چرخه سلولی طبیعی را تغییر دهند، تمایز را مسدود یا برگردانند، آپوپتوز را مختل و تکثیر را تسهیل کنند.

^۱. Histone. Acetyltransferases. (HATs)

^۲. Histone. Deacetylases. (HDACs)



شکل ۸-۹: تغییرات هیستون استیلازها و هیستون داستیلازها در سرطان‌ها. تغییرات در تعادل استیلاسیون/ داستیلاسیون می‌تواند بر بیان ژن‌های سرکوب‌کنندهٔ تومور و انکوژن‌ها تأثیر بگذارد و به روند تومورزایی کمک کند. افزایش بیان یا به کارگیری غیرطبیعی هیستون داستیلازها یا کاهش بیان یا فعالیت هیستون استیلازها می‌تواند منجر به سرکوب ژن‌های سرکوبگر تومور شود. در مقابل، موتاسیون یا کاهش بیان هیستون داستیلازها یا افزایش بیان، فیوژن انکوژنیک یا به کارگیری نابه‌جای هیستون استیلازها می‌تواند منجر به فعال‌سازی انکوژن‌ها شود.

۸-۴-۱- تغییرات هیستون استیل ترانسفرازها در سرطان

هیستون استیلازها بسته به هومولوژی ساختاری خود به سه خانواده تقسیم می‌شوند. N- استیل ترانسفرازهای مرتبط با Gcn5 (GNAT) شامل GCN5 و PCAF هستند. استیل ترانسفرازهای MYST عبارت‌اند از MOZ، MOF، TIP60 و HBO1. آخرین طبقه متشکل از پروتئین‌های متصل شونده به عنصر پاسخ‌دهندهٔ p300/cAMP است که شامل CBP و p300 می‌شود.

¹. Gcn5-related N-acetyltransferases (GNAT)

استیلاسیون مناسب در داخل سلول‌ها مهم است؛ زیرا فراتنظیم یا فروتنظیم هیستون‌استیلازها با تومورزایی و پیش‌آگاهی ضعیف مرتبط است (دی سربو و اشنايدر، ۲۰۱۳). به‌عنوان مثال، استیلاسیون نابه‌جای لیزین با وساطت CBP/p300 در پیدایش چندین سرطان هماتولوژیک نقش دارد. فراوانی بالایی از تغییرات در ژن‌های هیستون‌استیلاز در سرطان‌های ریهٔ سلول کوچک، زیرگروه تومور تهاجمی ریه با پیش‌آگاهی ضعیف و لنفوم‌های سلول B غیرهوچکین گزارش شده است. این موتاسیون‌ها اغلب موتاسیون‌های نقطه‌ای در نزدیکی دمین کاتالیتیک هیستون‌استیلاز هستند که منجر به ازدست‌دادن فعالیت آنزیمی می‌شوند. در لوسمی لنفوئیدی حاد، درصد قابل توجهی از بیماران (۱۸/۳٪) دارای موتاسیون‌هایی در دمین هیستون‌استیلاز CBP هستند. نشان داده شد که این موتاسیون‌ها استیلاسیون هیستون و تنظیم رونویسی اهداف CBP را مختل می‌کنند. از آنجایی که چندین مورد از این موتاسیون‌های به‌دست‌آمده در مرحلهٔ بازگشت در ساب‌کلون‌ها هنگام تشخیص شناسایی شدند، پیشنهاد شد که ممکن است در مقابل درمان مقاومت کنند.

ژن‌های به‌رمزدرآورندهٔ هیستون‌استیلازها می‌توانند به‌عنوان انکوژن‌ها نیز عمل کنند. اگرچه کمتر متداول است، اما گزارش شده است که جابه‌جایی‌های کروموزومی شامل ژن‌های هیستون‌استیلاز می‌تواند پروتئین‌های کایمری تولید کند که فعالیت کاتالیتیک هیستون‌استیلازها و برمودومین‌ها را حفظ کند. علاوه‌براین موارد، هیستون‌استیلازها همچنین می‌توانند در تنظیم فیوژن‌های انکوژنی نقش داشته باشند. به‌عنوان مثال، AML1-ETO، متداول‌ترین پروتئین فیوژن در لوسمی‌های میلوئید حاد، توسط p300 استیله می‌شود. این استیلاسیون برای پیش‌برد خودنوسازی و القای لوسمی ضروری است. این مثال‌ها نشان می‌دهند که به‌دلیل عملکردهای سلولی مختلف مرتبط با هیستون استیلازها و سوبستراهای اختصاصی آن‌ها (هیستون‌ها و همچنین پروتئین‌های غیرهیستونی)، بسته به موقعیت سلولی یا مولکولی و نوع سرطان، آن‌ها می‌توانند به‌عنوان سرکوبگر تومور یا انکوژن عمل کنند.

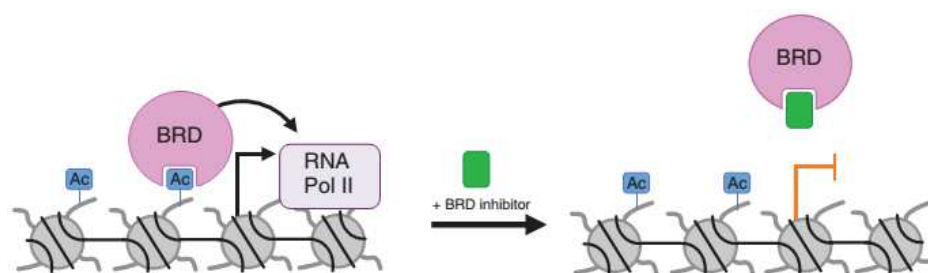
۸-۴-۲- پروتئین‌های شناسایی استیل- لیزین و سرطان

برمودومین یک ماژول پروتئین حفاظت‌شده (خواننده) است که استیل-لیزین را شناسایی می‌کند. بسته به ساختار، هر برمودومین برای هیستون‌های استیله متفاوت اولویت دارد. پروتئین‌های دارای برمودومین اغلب در تنظیم رونویسی با به‌کارگیری شرکای مولکولی مختلف نقش دارند. هیستون استیلازهایی مانند PCAF، GCN5، p300 و CBP نیز دارای برمودومین هستند.

¹. Acute lymphoid leukemia (ALL)

همان‌طور که قبلاً بحث شد، یک طبقه مهم از پروتئین‌های دارای برومودومین، خانواده پروتئین موتیف اکسترا ترمینال، شامل پروتئین دارای برومودومین ۲، پروتئین دارای برومودومین ۳، پروتئین دارای برومودومین ۴ و پروتئین دارای برومودومین ۱ است. پروتئین‌های موتیف اکسترا ترمینال میانجی‌های حیاتی فعالیت رونویسی از طریق شناسایی هیستون‌های استیل‌ه و به‌کارگیری کوفاکتورها برای فعال‌سازی ژن هستند (شکل ۸-۱۰).

پروتئین دارای برومودومین ۴ و پروتئین دارای برومودومین ۲ با به‌کارگیری کمپلکس عامل طولیل سازی رونویسی مثبت (P-TEFb) به کروماتین استیل‌ه‌شده از طریق برومودومین‌های خود، نقش مهمی در طولیل‌سازی رونویسی ژن‌های کنترل‌کننده تکثیر سلولی ایفا می‌کنند. پروتئین‌های موتیف اکسترا ترمینال نقش مهمی در تومورزایی دارند، به‌عنوان مثال پروتئین دارای برومودومین ۴ که برای حفظ لوسمی میلوئید حاد با بیان پایدار Myc مورد نیاز است. در سرطان پستان، پروتئین دارای برومودومین ۳/۴ با هیستون H3K36 متیل‌ترانسفراز WHSC1 برهم‌کنش می‌کند و بیان گیرنده استروژن آلفا را ارتقا می‌دهد، در نتیجه به مقاومت تاموکسیفن^۲ در سرطان پستان گیرنده استروژن- مثبت کمک می‌کند. این واقعیت که برومودومین‌ها به‌عنوان یک هدف بالقوه دارویی هستند، مشوق کشف و توسعه چندین مهارکننده مولکول کوچک در سال‌های اخیر بوده‌اند (شکل ۸-۱۰).



شکل ۸-۱۰: هدف قراردادن خوانندگان استیلاسیون هیستون برای اصلاح بیان ژن. برومودومین یک مازول پروتئینی حفاظت‌شده است که استیل-لیزین (خواننده) را شناسایی می‌کند. پروتئین‌های دارای برومودومین اغلب در فعال‌سازی رونویسی با به‌کارگیری شرکای مولکولی مختلف نقش دارند. مهارکننده‌های برومودومین از برهم‌کنش بین برومودومین و گروه استیل جلوگیری می‌کنند و باعث فروتنظیم ژن‌ها از جمله برخی که ممکن است نقش مهمی در سرطان داشته باشند، می‌شوند.

^۱. Estrogen receptor alpha (ER α)

^۲. تاموکسیفن یک داروی هورمون درمانی است که برای درمان سرطان پستان حساس به استروژن یا گیرنده استروژن مثبت استفاده می‌شود. تاموکسیفن اتصال گیرنده‌های استروژن به استروژن را مسدود می‌کند، در نتیجه سلول‌ها نمی‌توانند برای تقسیم و رشد تحریک شوند.

JQ1 و I-BET762 دو بازدارنده منتخب پروتئین‌های خانواده موتیف اکسترترمینال هستند که به‌طور رقابتی به پروتئین دارای برومودومین ۴ متصل می‌شوند (فیلیپاکوپولوس و همکاران، ۲۰۱۰). کارایی JQ1 در ابتدا در پروتئین هسته‌ای در بیضه^۱ سلول‌های کارسینومای خط میانی^۲ آزمایش شد که پروتئین دارای برومودومین ۴ ترکیب شده با پروتئین هسته‌ای در بیضه را بیان می‌کنند. انکوپروتئین پروتئین هسته‌ای در بیضه-پروتئین دارای برومودومین ۴^۳ با تداخل در تمایز اپیتلیال به سرطان‌زایی کمک می‌کند. نشان داده شد که تیمار رده‌های سلولی کارسینومای خط میانی و مدل‌های پیوند زئوگرافت با JQ1 باعث جابه‌جایی پروتئین هسته‌ای در بیضه-پروتئین دارای برومودومین ۴ از کروماتین می‌شود که تمایز و اثرات ضدتکثیری خاص را القا می‌کند. تا به امروز، اثربخشی JQ1 در بسیاری از بدخیمی‌های دیگر، از جمله بدخیمی‌های هماتولوژیک و انواع تومورهای جامد، مانند گلیوبلاستوما، مدولوبلاستوما، کارسینوم سلول‌های کبدی، سرطان روده بزرگ، سرطان پانکراس، سرطان پروستات، سرطان ریه و سرطان پستان نشان داده شده است (پرز-سالویا و استلر، ۲۰۱۷). در حال حاضر، تلاش زیادی برای تولید مهارکننده‌هایی که پروتئین‌های برومودومین غیرموتیف اکسترترمینال، از جمله BRD CBP و p300 را هدف قرار می‌دهند، انجام می‌شود. تا به امروز، بسیاری از مهارکننده‌هایی که پروتئین‌های برومودومین را هدف قرار می‌دهند در آزمایش‌های بالینی بررسی شده‌اند.

۸-۴-۳- تغییرات هیستون داستیلازها در سرطان

ژنوم انسان، ۱۸ هیستون داستیلاز را رمز می‌کند. هیستون داستیلازها بر اساس شباهت اولیه آن‌ها به هیستون داستیلازهای مخمر، به چهار طبقه می‌تواند تقسیم شود. هیستون داستیلازهای طبقه I شامل هیستون داستیلاز۱، هیستون داستیلاز۲، هیستون داستیلاز۳ و هیستون داستیلاز۸ هستند. هیستون داستیلازهای طبقه II با هیستون داستیلاز۴، هیستون داستیلاز۵، هیستون داستیلاز۶، هیستون داستیلاز۷، هیستون داستیلاز۹ و هیستون داستیلاز۱۰ نشان داده می‌شوند. هیستون داستیلازهای کلاس III متعلق به خانواده سیرتوئین ۲^۴ هستند که متشکل از سیرتوئین ۱، سیرتوئین ۲، سیرتوئین ۳، سیرتوئین ۴، سیرتوئین ۵، سیرتوئین ۶ و سیرتوئین ۷ است. کلاس IV فقط دارای هیستون داستیلاز ۱۱ است. کلاس‌های I، II و IV هیستون داستیلازهای وابسته به Zn^{2+} هستند، در حالی که پروتئین‌های شبیه سیرتوئین ۲ هیستون داستیلازهای وابسته به نیکوتین آمیدآدنین دی‌نوکلئوتید (NAD^+) هستند (همچنین به فصل نهم کتاب مراجعه کنید).

¹ Nuclear protein in testis (NUT)

² Midline Carcinoma (NMC)

³ Bromodomain-containing protein 4- nuclear protein in testis (BRD4-NUT)

⁴ Sirtuin 2

هیستون داستیلازها همچنین می‌توانند پروتئین‌های غیرهیستونی را داستیل‌ه کنند. برخی از هیستون داستیلازها زیرواحدهای کمپلکس‌هایی نظیر Sin3 و NuRD هستند. ارتباط با این کمپلکس‌ها باعث افزایش فعالیت کاتالیتیکی آن‌ها می‌شود.

تغییرات فعالیت هیستون داستیلاز در سرطان‌ها به‌طور کلی با داستیل‌اسیون نابه‌جا و غیرفعال شدن ژن‌های سرکوبگر تومور همراه است. تغییر بیان و موتاسیون‌ها در ژن‌های رمزکننده هیستون داستیلاز به‌دلیل غیرفعال شدن ژن‌های سرکوبگر تومور با توسعه تومور مرتبط است (روپرو و استلر، ۲۰۰۷). بیان بیش از حد هیستون داستیلاز ۱ در سرطان معده، پستان، پانکراس، کبد، ریه و پروستات مشاهده شده است و در بیشتر موارد، فراتنظیم هیستون داستیلاز ۱ با پیش‌آگاهی ضعیف همراه است. هیستون داستیلاز ۱، هیستون داستیلاز ۲ و هیستون داستیلاز ۳ در سرطان‌های سلول کلیوی، کولورکتال و معده و همچنین در لنفوم هوچکین کلاسیک به شدت بیان می‌شوند. موتاسیون‌های مؤثر بر هیستون داستیلاز در چندین سرطان نیز گزارش شده است. ازدست‌دادن بیان پروتئین هیستون داستیلاز ۲ در کارسینوم اسپورادیک با ناپایداری ریزماهواره همراه بود. شناخته‌شده‌ترین مکانیسمی که مشارکت هیستون داستیلازها را در سرطان نشان می‌دهد، برهم‌کنش آن‌ها با پروتئین‌های فیوزن انکوژنیک است. در لوسمی پرومیلوسیتیک حاد^۱، پروتئین‌های فیوزن دارای RAR-PML و RAR-PLZF به عناصر پاسخگو به اسید رتینوئیک^۲ متصل می‌شوند و کمپلکس‌های دارای هیستون داستیلاز را به خدمت می‌گیرند. این عمل از اتصال گیرنده رتینوئیک اسید جلوگیری می‌کند و بیان ژن‌های دخیل در تمایز سلول‌های میلوئید را سرکوب می‌کند. علاوه‌براین، فیوزن ETO یا TEL به لوسمی میلوئید حاد ۱ یک فعال‌کننده رونویسی را از طریق به‌کارگیری یک کمپلکس هیستون داستیلاز به یک سرکوب‌کننده رونویسی اساسی تبدیل می‌کند، در نتیجه بیان ژن‌های حیاتی برای تمایز را سرکوب می‌کند و لوسمی میلوئید حاد را پیش می‌برد.

۸-۴-۴- مهارکننده‌های هیستون‌استیلاز و هیستون‌داستیلاز در درمان سرطان

فعالیت نابه‌جای هیستون‌استیلاز در سرطان‌ها با استفاده از مهارکننده‌های هیستون‌استیلاز می‌تواند هدف قرار داده‌شود. یک مثال توسط بازدارنده‌های دو سوبسترای برای PCAF، p300 و TIP60 ارائه شده است که از دو سوبسترای هیستون‌استیلاز تقلید می‌کنند: کوفاکتور استیل‌کوآنزیم A و یک پپتید شبیه به سوبسترای لیزین. با این حال، این مولکول‌ها از غشا عبور نمی‌کنند. چندین ترکیب مصنوعی برای هدف قراردادن انتخابی هیستون‌استیلازها طراحی شده‌اند، مانند A-485، یک مهارکننده کاتالیتیکی قوی، انتخابی و شبیه دارو p300 و CBP (لاسکو و همکاران، ۲۰۱۷). همان

^۱. Acute promyelocytic leukemia (APL)

^۲. Retinoic acid-responsive elements (RAREs)

طور که در ۸-۴-۳ توضیح داده شد، هدف قراردادن بازخوانی استیلایسیون هیستون از طریق مهار خوانندگان استیلایسیون هیستون (یعنی مهارکننده‌هایی که پروتئین‌های برومودمین را هدف قرار می‌دهند) یک استراتژی جذاب برای درمان دارویی بدخیمی‌ها است. بر این اساس، مهارکننده‌های برومودمین در کارآزمایی‌های بالینی‌ای بررسی شده‌اند، درحالی‌که در حال حاضر هیچ کارآزمایی بالینی با مهارکننده‌های هیستون‌استیلاز وجود ندارد.

اعضای خانواده هیستون‌داستیلاز، اهداف جذابی برای طراحی دارو هستند و انواع استراتژی‌های ترکیبی مبتنی بر هیستون‌داستیلاز برای درمان سرطان‌ها توسعه داده شده‌اند (روپرو و استلر، ۲۰۰۷). مهار هیستون‌داستیلازها اثرات ضدتوموری امیدوارکننده‌ای را نشان داده است. چندین طبقه از مهارکننده‌های هیستون‌داستیلاز طبیعی و مصنوعی مانند بوتیرات‌ها، هیدروکسامیک‌اسید، بنزامیدها و تتراپتیدهای حلقوی شناسایی شده‌اند. تریکوستاتین^۱ یک ترکیب طبیعی است که فعالیت هیستون‌داستیلازها را مهار می‌کند و تمایز سلول‌های سرطانی و آپوپتوز را القا می‌کند. سوپرویلانیلید هیدروکسامیک اسید^۲ (ورینوسات) یک مهارکننده رقابتی pan-HDAC است که از نظر ساختاری به گروه اسیدهای هیدروکسامیک تعلق دارد. سوپرویلانیلید هیدروکسامیک اسید اولین مهارکننده هیستون‌داستیلاز مورد تأیید سازمان غذا و دارو بود و از نظر بالینی در درمان لنفوم‌های سلول T پوستی اولیه مقاوم مؤثر است. بازدارنده‌های هیستون‌داستیلاز خاص نیز با موفقیت تولید شده‌اند. SHI-1:2 یک مهارکننده بنزامید است که فعالیت بازدارندگی خاص هیستون‌داستیلاز/ هیستون‌داستیلاز ۱ را نشان می‌دهد. چندین مهارکننده هیستون‌داستیلاز در حال حاضر در مرحله آزمایشات بالینی هستند و برخی از آن‌ها قبلاً برای درمان بیماری تأیید شده‌اند. همان‌طور که در بالا توضیح داده شد، موتاسیون‌های مؤثر بر هیستون‌داستیلاز در چندین سرطان گزارش شده است. موتاسیون‌هایی که باعث از بین رفتن بیان پروتئین هیستون‌داستیلاز ۲ و یا فعالیت آنزیمی می‌شوند، سلول‌ها را نسبت به اثرات ضد تکثیری و پیش‌آپوپتوز معمول مهارکننده‌های هیستون‌داستیلاز مقاوم‌تر می‌کنند؛ بنابراین، وضعیت موتاسیون ژن‌های رمزکننده هیستون‌داستیلاز در سرطان‌های هر فرد باید برای درمان‌های فارماکوژنتیک در نظر گرفته شود.

۸-۵- عوامل بازسازی کروماتین و سرطان

عوامل بازسازی کروماتین، کمپلکس‌های چند زیرواحدی هستند که از انرژی هیدرولیز ATP برای تغییر مکان، بیرون راندن، لغزش یا تغییر ترکیب نوکلئوزوم‌ها استفاده می‌کنند. این فرایندها نقش کلیدی در رونویسی را با میسر ساختن دسترسی پروتئین‌های متصل‌شونده به DNA و ماشین

^۱. Trichostatin A (TSA)

^۲. Suberoylanilide hydroxamic acid (SAHA)

رونویسی به DNA، برای تسهیل بیان ایفا می‌کند. در یوکاریوت‌ها، چهار خانواده از کمپلکس‌های بازسازی کروماتین مشخص شده‌اند: خانواده سوئیچینگ معیوب/ غیر تخمیری ساکارز^۱، خانواده تقلید- سوئیچ^۲، بازسازی نوکلئوزومی و کمپلکس هیستون‌داسیتلاز^۳ و خانواده اینوزیتول^۴. این کمپلکس‌ها دارای انواع متمایزی از ATPase‌های کاتالیتیکی هستند و با چندین عامل مرتبط هستند که اهداف را مشخص می‌کنند و به فرایندهای زیستی متنوع از جمله تنظیم ژن کمک می‌کنند. شرح گسترده‌ای از فعالیت‌های این عوامل بازسازی کروماتین را در فصل سوم کتاب می‌توان یافت. در اینجا تغییرات این کمپلکس‌ها در سرطان و پیامدهای عملکردی آن‌ها شرح داده می‌شود.

۸-۵-۱- کمپلکس‌های سوئیچینگ معیوب/ غیر تخمیری ساکارز و سرطان

در سلول‌های پستانداران، کمپلکس‌های سوئیچینگ معیوب/ غیر تخمیری ساکارز به‌طور کلی به دو نوع کمپلکس گروه‌بندی می‌شوند: کمپلکس‌های BAF دارای ATPase BRG1 یا BRM و چندین زیرواحد جایگزین، مانند ARID1A یا ARID1B و کمپلکس‌های PBAF (BAF مرتبط با پلی برومو) دارای ATPase BRG1 که با عواملی مانند PBRM1 و ARID2 مرتبط هستند. مطالعات توالی‌یابی ژنوم سرطان نشان داده‌است که بیش از ۲۰ درصد از همه سرطان‌ها دارای موتاسیون‌هایی در ژن‌های رمزکننده سوئیچینگ معیوب/ غیر تخمیری ساکارز هستند (والنسیا و کادوچ، ۲۰۱۹). شواهد برای نقش محرک تغییرات کمپلکس BAF در سرطان ابتدا از شناسایی موتاسیون‌ها در جایگاه SMARCB1 که زیرواحد مشترکی با هر دو کمپلکس BAF SWI/SNF و PBAF را رمز می‌کند، به‌دست آمد. ژن SMARCB1 در حدود ۹۸ درصد از تومورهای رابدوئید بدخیم^۵، یک سرطان بسیار تهاجمی در کودکان، تحت غیرفعال‌سازی دوآلی قرار می‌گیرد. از دست دادن ARID1A نشان‌دهنده یک ژن متداول جهش‌یافته در سرطان‌های تخمدان، آندومتر، معده، پانکراس، پستان، مغز، پروستات، ریه و کبد است. اکثریت موتاسیون‌های ARID1A، حذف یا اضافه شدن‌های^۶ تغییر چارچوب یا موتاسیون‌های نقطه‌ای بی معنی هستند که منجر به از دست دادن پروتئین می‌شوند.

¹. Switching /sucrose non-fermenting (SWI/SNF)

². Imitation-switch. (ISWI)

³. Nucleosome remodeling and histone deacetylase complex (NuRD)

⁴. Inositol 80 (INO80)

⁵. Malignant rhabdoid tumors (MRTs)

⁶. Insertions/deletions (Indels)

کمپلکس‌های سوئیچینگ معیوب/ غیرتخمیری ساکارز برای مخالفت با خاموشی اپی ژنتیکی توسط پروتئین‌های گروه پلی‌کومب مطرح شد. برای مثال، در مگس سرکه نشان داده شد که پروتئین‌های گروه پلی‌کومب، سرکوب ژن‌های Hox را طی جنین‌زایی حفظ می‌کنند، درحالی‌که کمپلکس سوئیچینگ معیوب/ غیرتخمیری ساکارز باعث فعال‌سازی ژن Hox می‌شود. مطالعات در MRT نشان داد که ازدست‌دادن SMARCB1 کمپلکس‌های سوئیچینگ معیوب/ غیرتخمیری ساکارز را روی کروماتین ناپایدار می‌کند، بنابراین آن‌ها قادر به مقابله با سرکوب با واسطهٔ گروه پلی‌کومب در پروموتورهای دوظرفیتی مورد نیاز برای تمایز نیستند (ناکایاما و همکاران، ۲۰۱۷).

به‌صورت حیرت‌انگیزی، درحالی‌که اجزای اصلی مجموعهٔ سوئیچینگ معیوب / غیرتخمیری ساکارز اغلب غیرفعال می‌شوند، پروتئین‌های گروه پلی‌کومب اغلب در سرطان‌ها بیش از حد بیان می‌شوند. به‌عنوان مثال، تشدیدکنندهٔ هومولوگ زست ۲ اغلب در کارسینوم‌های سلول شفاف تخمدان^۱ بیش از حد بیان می‌شود، درحالی‌که ARID1A در حدود ۵۷٪ از کارسینوم‌های سلول شفاف تخمدان جهش‌یافته است. ارتباط بین کمپلکس‌های گروه پلی‌کومب و سوئیچینگ معیوب / غیرتخمیری ساکارز بیشتر با مطالعاتی حمایت می‌شود که نشان می‌دهد مهار تشدیدکنندهٔ هومولوگ زست ۲ در سلول‌های سرطان تخمدان جهش‌یافته با ARID1A به‌صورت مصنوعی کشنده عمل می‌کند و وضعیت موتاسیون ARID1A با پاسخ به مهارکننده‌های تشدیدکنندهٔ هومولوگ زست ۲ مرتبط است (بیتلر و همکاران، ۲۰۱۵).

اختلال افزایش عملکرد زیرواحدهای سوئیچینگ معیوب / غیرتخمیری ساکارز نیز اخیراً کشف شده است. سارکوم سینوویال انسان یک جابه‌جایی کروموزومی مکرر را نشان می‌دهد، $t(X;18)(p11.2;q11.2)$ که ژن SS18 روی کروموزوم ۱۸ به یکی از سه ژن نزدیک مربوط به هم در کروموزوم X، SSX1، SSX2 و به‌ندرت، SSX4، ادغام می‌شود که این امر منجر به ایجاد پروتئین‌های فیوژن در یک قالب می‌شود. SS18 یک زیرواحد کمپلکس‌های BAF است. هنگامی که SS18 با SSX ادغام می‌شود، پروتئینی تولید می‌شود (SMARCB1) که با بیرون‌راندن زیرواحد سوئیچینگ معیوب/ غیرتخمیری ساکارز، کمپلکس سوئیچینگ معیوب / غیر تخمیری ساکارز را تغییر می‌دهد. این کمپلکس تغییر یافته سوئیچینگ معیوب / غیرتخمیری ساکارز به جایگاه‌های ژنومی دیگر هدایت می‌شود و سرکوب H3K27me3 در ژن‌های حیاتی برای سرطان را کاهش می‌دهد. یکی از این ژن‌ها عامل رونویسی Sox2 را رمزگذاری می‌کند که برای تکثیر در سارکوم سینوویال ضروری است. به‌دلیل نقش مهم کمپلکس‌های سوئیچینگ معیوب / غیرتخمیری ساکارز در سرطان، چندین ترکیب که زیرواحدهای سوئیچینگ معیوب / غیرتخمیری ساکارز را هدف قرار می‌دهند، توسعه

¹. Ovarian clear cell carcinomas (OCCCs)

یافته‌اند. به عنوان مثال، برومودمین زیر واحد سوئیچینگ معیوب / غیر تخمیری ساکارز به نام پروتئین دارای برومودمین ۷ و پروتئین دارای برومودمین ۹ توسط مواد شیمیایی خاص و ترکیبات تجزیه کننده هدف قرار گرفته است که نشان داده شد تکثیر سلول های تومور با موتاسیون های سوئیچینگ معیوب / غیر تخمیری ساکارز را کاهش می دهد (رمیلارد و همکاران، ۲۰۱۷).

۸-۵-۲- کمپلکس های تقلید-سوئیچ و سرطان

پستانداران دارای دو هومولوگ تقلید-سوئیچ، SNF2L (با ژن SMARCA1 رمزگذاری می شود) و SNF2H (که با ژن SMARCA5 رمزگذاری می شود) هستند. در پستانداران، پنج کمپلکس تقلید-سوئیچ شناسایی شده است: ACF، CHRAC، WICH، RSF و NoRC. کمپلکس های تقلید-سوئیچ معمولاً هتروداایمر هستند و از یک پروتئین سوئیچ تقلیدی (SNF2L یا SNF2H) و زیر واحدی دیگر تشکیل شده اند که از طریق هدف گیری و به کارگیری تنظیم کننده های کروماتین اضافی ویژگی های بیشتری را فراهم می کند.

عامل بازسازی و فاصله انداز ۱ یک کمپلکس تقلید-سوئیچ است که از SNF2H و عامل بازسازی و فاصله انداز ۱ تشکیل شده است. این کمپلکس می تواند نوکلئوزوم را برای تنظیم رونویسی تغییر مکان دهد. عامل بازسازی و فاصله انداز ۱ در انواع مختلفی از تومورها، از جمله سرطان پستان، بیش از حد بیان می شود و با تهاجمی بودن آن ها از نظر اندازه و مرحله تومور همبستگی دارد. بیان بیش از حد عامل بازسازی و فاصله انداز ۱ با تقویت ناحیه کروموزومی 11 q13.5 در ارتباط بود. افزایش بیان عامل بازسازی و فاصله انداز ۱ نشان داده شد که بیان ژن های تنظیم شده توسط NF-κB را ارتقا می دهد، از جمله برخی ژن هایی که در فرار از آپوپتوز و التهاب نقش دارند که برای ایجاد مقاومت شیمیایی در سلول های سرطان تخمدان ضروری است (یانگ و همکاران، ۲۰۱۴).

برومودمین مجاور پروتئین دمین انگشت روی 2A^۲ (همچنین به عنوان TIP5 شناخته می شود) با SNF2H برهم کنش می کند تا کمپلکس بازسازی هسته ای NoRC را تشکیل دهد (برساگری و سانتورو، ۲۰۱۹). برومودمین مجاور پروتئین دمین انگشت روی 2A در ابتدا به عنوان سرکوب کننده ژن های rRNA ریوزومی در سلول های سالم و تمایز یافته شناسایی شد. در سرطان پروستات، برومودمین مجاور پروتئین دمین انگشت روی 2A به شدت بیان می شود. تغییرات در میزان برومودمین مجاور پروتئین دمین انگشت روی 2A ناشی از تغییرات توالی یا ساختاری سوماتیک نیست، بلکه به احتمال زیاد به دلیل تنظیم نادرست پس از رونویسی، شامل از دست دادن microRNA miR-133a است. در سرطان پروستات، برومودمین مجاور پروتئین دمین انگشت روی 2A بیان

¹. Remodeling and spacing factor 1 (RSF1)

². Bromodomain adjacent to zinc finger domain protein 2A (BAZ2A)

ژن‌های متعددی را که اغلب در سرطان‌های متاستاتیک پروستات سرکوب می‌شوند، خاموش می‌کند. داده‌ها همچنین نشان داده‌اند که برومودمین مجاور پروتئین دمین انگشت روی 2A برای شروع سرطان پروستات ناشی از ازدست‌دادن PTEN، شایع‌ترین ژن سرکوب‌کنندهٔ تومور ازدست‌رفته در سرطان اولیهٔ پروستات، مورد نیاز است (پیتزاک و همکاران، ۲۰۲۰).

بیان بیش از حد برومودمین مجاور پروتئین دمین انگشت روی 2A نشان داده شده است که با یک زیرگروه سرطان پروستات مرتبط است که فنوتیپ متیله‌کنندهٔ جزیره CpG و عود سرطان پروستات را نشان می‌دهد؛ بنابراین، برومودمین مجاور پروتئین دمین انگشت روی 2A ممکن است به‌عنوان یک نشانگر مفید برای متاستاتیک پنهان (نهفته) در سرطان پروستات عمل کند.

۸-۵-۳- کمپلکس بازسازی نوکلئوزومی و کمپلکس هیستون‌داستیلاز و سرطان

بازسازی نوکلئوزومی و کمپلکس هیستون‌داستیلاز (Mi-2) یک کمپلکس پروتئینی ماکرومولکولی است که بازسازی کروماتین را با فعالیت پروتئین داستیلاز ترکیب می‌کند (هوفمن و اسپنگلر ۲۰۱۹). زیرکمپلکس بازسازی شامل یک ATPase (پروتئین متصل‌شونده به DNA کرومودومین‌هلیکاز ۳/۴/۵؛ CHD3/4/5) است درحالی‌که فعالیت هیستون‌داستیلاز به هیستون‌داستیلاز ۷۲ نسبت داده می‌شود. بازسازی نوکلئوزومی و کمپلکس هیستون‌داستیلاز همچنین شامل چندین جزء غیرآنزیمی از جمله دمین متصل‌شونده به متیل-CpG ۲/۳ (MBD2/3)، پروتئین‌های متصل‌شونده به رتینوبلاستوما ۷/۴ (RBBP4/7)، پروتئین‌های مرتبط با متاستاز ۳/۲/۱ (MTA1/2) و پروتئین‌های دارای دمین انگشت روی A/B GATA (GATAD2A/B) 2 است (آلن و همکاران، ۲۰۱۳).

چندین زیرواحد متعلق به خانوادهٔ پروتئین کمپلکس بازسازی نوکلئوزومی و کمپلکس هیستون‌داستیلاز در انواع سرطان‌های انسانی بیش از حد بیان می‌شوند. اینها عبارتند از: MTA1/2/3، هیستون‌داستیلاز ۱ و هیستون‌داستیلاز ۲. افزایش بیان این عوامل با سرکوب ژن مرتبط بود و در فرایندهایی مانند ترمیم آسیب DNA و حفظ یکپارچگی ژنومی دخالت داشت. MTA1 در سرطان‌های مختلف بیش از حد بیان می‌شود و با پیشرفت سرطان و نتیجهٔ ضعیف، همبستگی دارد. نشان داده‌شده‌است که MTA3 به‌طور مستقیم با BCL-6، یک تنظیم‌کنندهٔ اصلی تمایز سلول B که نقش مهمی در لنفوم منتشر سلول B ایفا می‌کند، برهم‌کنش دارد. نشان داده شد که زیرواحد MBD3 به‌طور مستقیم با JUN، یک انکوپروتئین مهم در بسیاری از بدخیمی‌ها، برهم‌کنش دارد. اخیراً مشخص شد که CHD4، یکی از زیرواحدهای کاتالیتیک بازسازی نوکلئوزومی و کمپلکس هیستون‌داستیلاز در رابدومیوسارکوم فیوژن-مثبت^۱، یک سارکوم نادر کودکان با بار موتاسیونی کم

^۱. Fusion-positive rhabdomyosarcoma (FP-RMS)

که ویژگی‌های ماهیچه‌سازی اسکلتی را به نمایش می‌گذارد، ضروری باشد. رایج‌ترین جابه‌جایی کروموزومی مشاهده‌شده در رابدومیوسارکوم فیوژن- مثبت PAX3-FOXO1 است که هر دو عامل رونویسی را رمز می‌کنند. این فیوژن یک عامل رونویسی جدید با قدرت رونویسی تغییر یافته و ژن‌های هدف ایجاد می‌کند. با کمال تعجب، اگرچه CHD4 به‌طور کلاسیک به‌عنوان یک سرکوبگر تعریف می‌شود، اما در رابدومیوسارکوم فیوژن- مثبت با برهم‌کنش با ابر تقویت‌کننده‌ها به‌عنوان یک همراه فعال‌کننده عمل می‌کند، به‌طوری‌که یک معماری کروماتین مجاز برای اتصال PAX3-FOXO1 و فعال کردن برنامهٔ انکوژنیک پایین‌دست آن ایجاد می‌کند (مارکوس و همکاران، ۲۰۲۰). این مثال‌ها بیشتر نشان می‌دهند که به‌دلیل عملکردهای سلولی مختلف که با فعالیت‌های بازسازی کروماتین وساطت می‌شود، بازخوانی آن‌ها به موقعیت سلولی یا مولکولی و نوع سرطان بستگی دارد.

۸-۵-۴- کمپلکس اینوزیتول ۸^۰ و سرطان

خانوادهٔ آنزیم‌های بازسازی کنندهٔ اینوزیتول ۸^۰ از دو طبقهٔ آنزیم اینوزیتول ۸^۰ و Swt1 تشکیل شده است (واتانابه و پترسون، ۲۰۱۰). در پستانداران، کمپلکس‌های بازسازی کروماتین زیرخانوادهٔ اینوزیتول ۸^۰، عبارت‌اند از اینوزیتول ۸^۰، پروتئین فعال‌کننده CBP مربوط به Snf2 (SRCAP) و p400. کمپلکس اینوزیتول ۸^۰ پستانداران از حداقل ۱۳ زیرواحد تشکیل شده است. اینوزیتول ۸^۰ در بسیاری از عملکردهای حیاتی سلولی، از جمله تنظیم رونویسی، تکثیر و ترمیم DNA، نگهداری تلومر و جداسازی کروموزوم نقش دارد. زیرواحدهای کمپلکس اینوزیتول ۸^۰ اغلب در سرطان‌ها از جمله کارسینوم سنگفرشی ریه، ۵۰ درصد سرطان‌های پانکراس و ۴۵ درصد سرطان‌های مثانه تقویت می‌شوند. افزایش بیان اینوزیتول ۸^۰ از نظر عملکردی با پیشرفت تومور مرتبط است. اینوزیتول ۸^۰ در سلول‌های سرطانی ملانوم جهش‌یافته BRAF و NRAS بیش از حد بیان می‌شود. از نظر مکانیکی، اینوزیتول ۸^۰ از طریق عوامل رونویسی مانند MTF و Sox9 با ابر تقویت‌کننده‌ها برهم‌کنش دارد. اتصال اینوزیتول ۸^۰ اشغال نوکلئوزوم را کاهش می‌دهد و به‌کارگیری واسطه را تسهیل می‌کند (به فصل سوم کتاب مراجعه کنید)، بنابراین رونویسی انکوژنی را پیش می‌برد. همچنین دیده شد که بیان اینوزیتول ۸^۰ در کارسینوم آناپلاستیک تیروئید، یک سرطان تهاجمی و کشنده با تهاجم خارج از تیروئید، متاستازهای دوردست و مقاومت در برابر درمان‌های مرسوم، فراتنظیم شد. جالب‌توجه است، نشان داده شد که فروتنظیم اینوزیتول ۸^۰ باعث کاهش بیان ژن‌های نشانگر سلول‌های بنیادی و همچنین کاهش خواص اختصاصی سلول‌های بنیادی از جمله توانایی ایجاد تومور می‌شود. این نتایج نشان می‌دهد که نقش اینوزیتول ۸^۰ در سلول‌های سرطانی با عملکرد پیش‌بردن سلول‌های بنیادی آن مرتبط است. بر این اساس، مشخص شده است که اینوزیتول ۸^۰ به‌طور انتخابی ژن‌های پرتوان را در سلول‌های بنیادی جنینی فعال می‌کند (وانگ و همکاران، ۲۰۱۴)، این موضوع از این ایده حمایت

می‌کند که ژن‌ها و مسیرهای مهم برای نگهداری سلول‌های بنیادی جنینی اغلب در سرطان دوباره فعال می‌شوند.

پیام کلیدی این فصل که باید به خاطر سپرد.

- تغییرات فرایندهای اپی ژنتیکی بر بیان ژن تأثیر می‌گذارد و باعث شروع و پیشرفت سرطان می‌شود.
- تنظیم‌کننده‌های اپی ژنتیک اغلب در سرطان دچار موتاسیون می‌شوند.
- ماهیت برگشت‌پذیر انحرافات اپی ژنتیک منجر به ظهور حوزه امیدوارکننده درمان اپی ژنتیک شده است.
- تغییرات متیلاسیون DNA اغلب در سرطان‌ها مشاهده می‌شود. ژن‌های سرکوبگر تومور از طریق هایپرمتیلاسیون پروموتور می‌تواند خاموش شود. هیپومتیلاسیون فراگیر با ناپایداری ژنومی مرتبط است. تغییرات متیلاسیون DNA در نواحی کنترل نشانه‌گذاری، با ازدست‌دادن متعاقب نشانه‌گذاری نیز با سرطان مرتبط شده است.
- جزء ماشین متیلاسیون/ دمتیلاسیون DNA، DNA متیل ترانسفراز 3A و جابه‌جایی ۱۱-۱۰ نوع ۲، اغلب در بدخیمی‌های هماتولوژیک دچار موتاسیون می‌شوند. تغییرات در پروفایل متیلاسیون DNA با تشدید ظرفیت خودتجدیدی سلول‌های بنیادی خون‌ساز مرتبط است.
- آزاسیتیدین و دسیتابین آنالوگ‌های نوکلئوتیدی هستند که به‌عنوان مهارکننده DNA متیل ترانسفرازها استفاده می‌شوند. این آنالوگ‌های نوکلئوتیدی طی همانندسازی DNA به جای سیتوزین می‌تواند وارد شود و به‌صورت کووالان به DNA متیل ترانسفراز 1 متصل شود و به وراثت متیلاسیون DNA طی همانندسازی DNA (دمتیلاسیون غیرفعال DNA) آسیب وارد کند.
- جزء ماشین گروه پلی کومب اغلب در سرطان‌ها دچار موتاسیون می‌شود. این تغییرات شامل موتاسیون‌ها (ازدست‌دادن عملکرد یا بیش‌فعال شدن) و بیان افتراقی نویسنده‌ها و پاک‌کن‌های H3K27me3 و موتاسیون‌ها در ژن‌های رمزکننده هیستون H3 (H3K27M) است. نشان داده شده است که افزایش فعالیت کمپلکس سرکوب‌کننده پلی کومب ۲ فنوتیپ تمایزدایی شده، چندین سرطان را با ارتقای بیشتر خودنوسازی نسبت به تمایز از طریق سرکوب ژن‌های تمایز یا ژن‌های کنترل‌کننده تکثیر سلولی پیش می‌برد.
- موتاسیون یک ژن هیستون H3 (H3K27M) که در گلیوماهای با گرید بالا در کودکان شناسایی شده است، تأثیر منفی غالب بر H3K27me3 دارد.

- بیان هیستون استیلازها و هیستون داستیلازها اغلب در سرطان‌ها تغییر می‌کنند که منجر به عدم تعادل استیلاسیون / داستیلاسیون می‌شود که این امر می‌تواند بر بیان ژن‌های سرکوبگر تومور و انکوژن‌ها تأثیر بگذارد و به روند تومورزایی کمک کند.
- برومودمین یک ماژول پروتئینی حفاظت‌شده (خواننده) است که استیل-لایزین را تشخیص می‌دهد. پروتئین‌های دارای برومودمین اغلب در تنظیم رونویسی با به‌کارگیری پارتنر مولکولی مختلف نقش دارند. JQ1 یک مهارکننده مولکول کوچک است که به‌طور رقابتی به برومودمین عامل رونویسی پروتئین دارای برومودمین ۴ متصل می‌شود و از طریق ژن‌های هدف آن جابه‌جا می‌شود و باعث تمایز و اثرات ضدتکثیری خاص می‌شود. اثربخشی آن‌ها در بسیاری از بدخیمی‌ها نشان داده شده است.
- عوامل بازسازی کروماتین نیز اغلب در سرطان‌ها، موتاسیون پیدا می‌کنند. به‌طور خاص، ARID1A، ژن رمزکننده زیرواحد کمپلکس SWI/SNF BAF، در ۵۷ درصد کارسینوم‌های سلول شفاف تخمدان دچار موتاسیون می‌شود. این موتاسیون‌ها معمولاً باعث از بین رفتن بیان پروتئین ARID1A می‌شوند و با پاسخ به مهارکننده‌های تشدیدکننده هومولوگ زست ۲ (کشنده‌گی مصنوعی) مرتبط هستند.

منابع

- Allen HF, Wade PA, Kutateladze TG (2013) The NuRD architecture. *Cell Mol Life Sci* 70(19):3513- 3524. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1256-2>
- Bell AC, Felsenfeld G (2000) Methylation of a CTCF-dependent boundary controls imprinted expression of the *Igf2* gene. *Nature* 405(6785):482-485. <https://doi.org/10.1038/35013100>
- Bersaglieri C, Santoro R (2019) Genome organization in and around the nucleolus. *Cell* 8(6):579. <https://doi.org/10.3390/cells8060579>
- Bitler BG, Aird KM, Garipov A, Li H, Amatangelo M, Kossenkova AV, Schultz DC, Liu Q, Shih le M, Conejo-Garcia JR, Speicher DW, Zhang R (2015) Synthetic lethality by targeting EZH2 methyltransferase activity in ARID1A-mutated cancers. *Nat Med* 21(3):231–238. <https://doi.org/10.1038/nm.3799>
- Brunetti L, Gundry MC, Goodell MA (2017) DNMT3A in leukemia. *Cold Spring Harb Perspect Med* 7(42). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a030320>
- Cancer Genome Atlas Research N, Ley TJ, Miller C, Ding L, Raphael BJ, Mungall AJ, Robertson A, Hoadley K, Triche TJ Jr, Laird PW, Baty JD, Fulton LL, Fulton R, Heath SE, Kalicki-Verziser J, Kandoth C, Kiko JM, Koboldt DC, Kanchi KL, Kulkarni S, Lamprecht TL, Larson DE, Lin L, Lu C, McLellan MD, McMichael JF, Payton J, Schmidt H, Spencer DH, Tomasson MH, Wallis JW, Wartman LD, Watson MA, Welch J, Wendl MC, Ally A, Balasundaram M, Birol I, Butterfield Y, Chiu R, Chu A, Chuah E, Chun HJ, Corbett R, Dhalla N, Guin R, He A, Hirst C, Hirst M, Holt RA, Jones S, Karsan A, Lee D, Li HI, Marra MA, Mayo M, Moore RA, Mungall K, Parker J, Pleasance E, Plettner P, Schein J, Stoll D, Swanson L, Tam A, Thiessen N, Varhol R, Wye N, Zhao Y, Gabriel S, Getz G, Sougnez C, Zou L, Leiserson MD, Vandin F, Wu HT, Applebaum F, Baylin SB, Akbani R, Broom BM, Chen K, Motter TC, Nguyen K, Weinstein JN, Zhang N, Ferguson ML, Adams C, Black A, Bowen J, Gastier-Foster J, Grossman T, Lichtenberg T, Wise L, Davidsen T, Demchok JA, Shaw KR, Sheth M, Sofia HJ, Yang L, Downing JR, Eley G (2013) Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 368(22):2059-2074. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1301689>
- Di Cerbo V, Schneider R (2013) Cancers with wrong HATS: the impact of acetylation. *Brief Funct Genomics* 12(3):231-243. <https://doi.org/10.1093/bfgp/cls065>
- Feinberg AP, Vogelstein B (1983) Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature* 301(5895):89-92
- Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A, Schoch R, Gattermann N, Sanz G, List A, Gore SD, Seymour JF, Bennett JM, Byrd J, Backstrom J, Zimmerman L, McKenzie D, Beach C, Silverman LR, International Vidaza High-Risk MDSSSG (2009) Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol* 10(3):223- 232. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70003-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70003-8)
- Filippakopoulos P, Qi J, Picaud S, Shen Y, Smith WB, Fedorov O, Morse EM, Keates T, Hickman TT, Felletar I, Philpott M, Munro S, McKeown MR, Wang Y, Christie AL, West N, Cameron MJ, Schwartz B, Heightman TD, La Thangue N, French CA, Wiest O, Kung AL, Knapp S, Bradner JE Created using Matnyaar -

- <https://matnyaar.ir> (2010) Selective inhibition of BET bromodomains. *Nature* 468(7327):1067-1073. <https://doi.org/10.1038/nature09504>
- Fraga MF, Herranz M, Espada J, Ballestar E, Paz MF, Ropero S, Erkek E, Bozdogan O, Peinado H, Niveleau A, Mao JH, Balmain A, Cano A, Esteller M (2004) A mouse skin multistage carcinogenesis model reflects the aberrant DNA methylation patterns of human tumors. *Cancer Res* 64(16):5527-5534. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-4061>
- Hoffmann A, Spengler D (2019) Chromatin remodeling complex NuRD in neurodevelopment and neurodevelopmental disorders. *Front Genet* 10:682. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00682>
- Lasko LM, Jakob CG, Edalji RP, Quu W, Montgomery D, Digiammarino EL, Hansen TM, Risi RM, Frey R, Manaves V, Shaw B, Algire M, Hessler P, Lam LT, Uziel T, Faivre E, Ferguson D, Buchanan FG, Martin RL, Torrent M, Chiang GG, Karukurichi K, Langston JW, Weinert BT, Choudhary C, de Vries P, Van Drie JH, McElligott D, Kesicki E, Marmorstein R, Sun C, Cole PA, Rosenberg SH, Michaelides MR, Lai A, Bromberg KD (2017) Discovery of a selective catalytic p300/CBP inhibitor that targets lineage-specific tumours. *Nature* 550(7674):128-132. <https://doi.org/10.1038/nature24028>
- Laugesen A, Hojfeldt JW, Helin K (2016) Role of the Polycomb repressive complex 2 (PRC2) in transcriptional regulation and Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med* 6(9). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026575>
- Lewis PW, Muller MM, Koletsky MS, Cordero F, Lin S, Banaszynski LA, Garcia BA, Muir TW, Becher OJ, Allis CD (2013) Inhibition of PRC2 activity by a gain-of-function H3 mutation found in pediatric glioblastoma. *Science* 340(6134):857-861. <https://doi.org/10.1126/science.1232245>
- Marques JG, Gryder BE, Pavlovic B, Chung Y, Ngo QA, Frommelt F, Gstaiger M, Song Y, Benischke K, Laubscher D, Wachtel M, Khan J, Schafer BW (2020) NuRD subunit CHD4 regulates super-enhancer accessibility in rhabdomyosarcoma and represents a general tumor dependency. *Elife* 9. <https://doi.org/10.7554/eLife.54993>
- Nakayama RT, Pulice JL, Valencia AM, McBride MJ, McKenzie ZM, Gillespie MA, Ku WL, Teng M, Cui K, Williams RT, Cassel SH, Qing H, Widmer CJ, Demetri GD, Irizarry RA, Zhao K, Ranish JA, Kadoch C (2017) SMARCB1 is required for widespread BAF complex-mediated activation of enhancers and bivalent promoters. *Nat Genet* 49(11):1613-1623. <https://doi.org/10.1038/ng.3958>
- Perez-Salvia M, Esteller M (2017) Bromodomain inhibitors and cancer therapy: from structures to applications. *Epigenetics* 12(5):323-339. <https://doi.org/10.1080/15592294.2016.1265710>
- Pietrzak K, Kuzyakrv R, Simon R, Bolis M, Bar D, Aprigliano R, Theurillat JP, Sauter G, Santoro R (2020) TIPS primes prostate luminal cells for the oncogenic transformation mediated by PTEN-loss, *Proc Natl Acad Sci USA* 117(7):3637-3647. <https://doi.org/10.1073/pnas.1911673117>
- Prager BC, Xie Q, Bao S, Rich JN (2019) Cancer stem cells: the architects of the tumor ecosystem. *Cell Stem Cell* 24(1):41-53. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.12.009>

- Qi J (2014) Bromodomain and extraterminal domain inhibitors (BET) for cancer therapy: chemical modulation of chromatin structure. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6(12):a018663. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018663>
- Remillard D, Buckley DL, Paulk J, Brien GL, Sonnett M, Seo HS, Dastjerdi S, Wuhr M, Dhe-Paganon S, Armstrong SA, Bradner JE (2017) Degradation of the BAF complex factor BRD9 by heterobi-functional ligands. *Angew Chem* 56(21):5738-5743. <https://doi.org/10.1002/anie.201611281>
- Ropero S, Esteller M (2007) The role of histone deacetylases (HDACs) in human cancer. *Mol Oncol* 1(1):19-25. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2007.01.001>
- Schwartzentruber J, Korshunov A, Liu XY, Jones DT, Pfaff E, Jacob K, Sturm D, Fontebasso AM, Quang DA, Tonjes M, Hovestadt V, Albrecht S, Kool M, Nantel A, Konermann C, Lindroth A, Jager N, Rausch T, Ryzhova M, Korbel JO, Hielscher T, Hauser P, Garami M, Kickner A, Bogner L, Ebinger M, Schuhmann MU, Scheurlen W, Pekrun A, Fruhwald MC, Roggendorf W, Kramm C, Durken M, Atkinson J, Lepage P, Montpetit A, Zakrzewska M, Zakrzewski K, Liberski PP, Dong Z, Siegel P, Kulozik AE, Zapatka M, Guha A, Malkin D, Felsberg J, Reifemberger G, von Deimling A, Ichimura K, Collins VP, Witt H, Milde T, Witt O, Zhang C, Castelo-Branco P, Lichter P, Faury D, Tabori U, Plass C, Majewski J, Pfister SM, Jabado N (2012) Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma. *Nature* 482(7384):226-231. <https://doi.org/10.1038/nature10833>
- Soejima H, Higashimoto K (2013) Epigenetic and genetic alterations of the imprinting disorder Beckwith-Wiedemann syndrome and related disorders. *J Hum Genet* 58(7):402-409. <https://doi.org/10.1038/jhg.2013.51> Created using Matnyaar - <https://matnyaar.ir>.
- Valencia AM, Kadoch C (2019) Chromatin regulatory mechanisms and therapeutic opportunities in cancer. *Nat Cell Biol* 21(2):152-161. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0258-1>.
- Wang L, Du Y, Ward JM, Shimbo T, Lackford B, Zheng X, Miao YL, Zhou B, Han L, Fargo DC, Jothi R, Williams CJ, Wade PA, Hu G (2014) INO80 facilitates pluripotency gene activation in embryonic stem cell self-renewal, reprogramming, and blastocyst development. *Cell Stem Cell* 14(5):575-591. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.02.013>.
- Watanabe S, Peterson CL (2010) The INO80 family of chromatin-remodeling enzymes: regulators of histone variant dynamics. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 75:35-42. <https://doi.org/10.1101/sqh.2010.75.063>.
- Wu G, Broniseer A, McEachron TA, Lu C, Paugh BS, Becksfort J, Qu C, Ding L, Huether R, Parker M, Zhang J, Gajjar A, Dyer MA, Mullighan CG, Gilbertson RJ, Mardis ER, Wilson RK, Downing JR, Ellison DW, Baker SJ (2012) Somatic histone H3 alterations in pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas and non-brainstem glioblastomas. *Nat Genet* 44(3):251-253. <https://doi.org/10.1038/ng.1102>.
- Xu K, Wu ZI, Groner AC, He HH, Cai C, Lis RT, Wu X, Stack EC, Loda M, Liu T, Xu H, Cato L, Thornton JE, Gregory RI, Morrissey C, Vessella RL, Montironi R, Magi-Galluzzi C, Kantoff PW, Balk SP, Liu XS, Brown M (2012) EZH2 oncogenic activity in castration-resistant prostate cancer cells is Polycomb-

- independent. *Science* 338(6113):1465-1469. <https://doi.org/10.1126/science.1227604>. 338/6113/1465 [pi] .
- Yang YL, Ahn JH, Lee KT, Shih le M, Choi JH (2014) RSFI is a positive regulator of NF-kappaB- induced gene expression required for ovarian cancer chemoresistance. *Cancer Res* 74(8):2258-2269. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-2459>.
- Yang L, Rau R, Goodell MA (2015) DNMT3A in haematological malignancies. *Nat Rev Cancer* 15(3):152-165. <https://doi.org/10.1038/nrc3895> Created using Matnyaar - <https://matnyaar.ir>.

فصل نهم
اپی ژنتیک و متابولیسم

مطالبی که در این فصل یاد خواهید گرفت.

بیشتر آنزیم‌های تغییردهنده کروماتین از متابولیت‌ها به‌عنوان کوفاکتور استفاده می‌کنند. در نتیجه، متابولیسم سلولی می‌تواند بر ظرفیت سلول برای نوشتن یا پاک کردن علائم کروماتین تأثیر بگذارد. این موضوع به یک ارتباط نزدیک بین تنظیم متابولیک و اپی ژنتیک اشاره دارد. در این فصل، ما مسیرهای بیوسنتزی کوفاکتورهایی را که در تنظیم اپی ژنتیک و کروماتین دخالت دارند، توضیح می‌دهیم و مثال‌هایی از این‌که چگونه مسیرهای متابولیک می‌توانند بر کروماتین و فرایندهای اپی ژنتیکی و همچنین اثر متقابل آن‌ها در زیست‌شناسی تکوین و سرطان اثر بگذارند، ارائه می‌کنیم.

۹-۱- اپی ژنتیک و متابولیسم

متابولیسم سلولی شامل مجموعه‌ای از واکنش‌های بیوشیمیایی پیچیده و بسیار هماهنگ است که از انرژی برای حفظ وضعیت زندگی یک سلول استفاده می‌کنند. این فرایند مکانیسم‌های تنظیمی را درگیر می‌کند که سلول‌ها را قادر می‌سازد در دسترس بودن مواد مغذی را حس کرده و اطلاعات را از طریق شبکه‌های پیام‌دهی انتقال دهند. متابولیسم بر هر فرایند سلولی اثر می‌گذارد. امروزه مطالعه متابولیسم بر تمامی زمینه‌های تحقیقات زیستی تأثیرگذار است. بیشتر آنزیم‌های تغییردهنده کروماتین به‌عنوان کوفاکتور از واسطه‌های مهم متابولیسم سلولی استفاده می‌کنند. بسته به دریافت رژیم غذایی، غلظت متابولیت‌ها می‌تواند متفاوت باشد و به‌نوبه خود، می‌تواند بیان ژن را با تعدیل فعالیت مسیرهای اپی ژنتیک و آنزیم‌های تغییردهنده کروماتین مرتبط تحت‌تأثیر قرار دهد. با توجه به اینکه متیلاسیون DNA و هر تغییر پس از ترجمه پروتئین‌ها می‌تواند تحت‌تأثیر بسیاری از مسیرهای متابولیکی قرار گیرد، واضح است که اپی ژنوم ممکن است به‌عنوان یک حسگر کل شبکه متابولیک عمل کند.

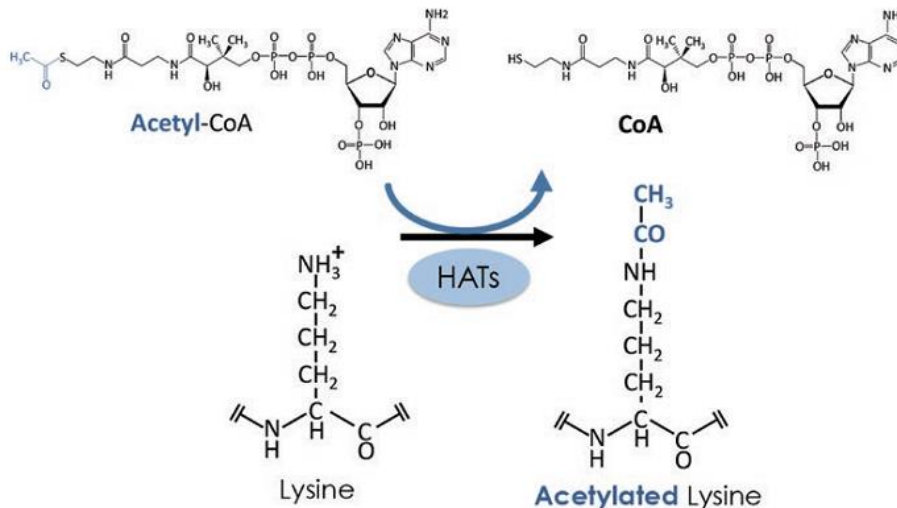
۹-۲- استیل‌کوآنزیم A

استیل‌کوآنزیم A (استیل‌کوآ) کوفاکتور هیستون‌استیل‌ترانسفرازها^۱ است (شکل ۹-۱). فراوانی استیل‌کوآ نشان‌دهنده وضعیت انرژی کلی سلول است. بیوسنتز، قسمت‌بندی کردن و نوسان غلظت استیل‌کوآ در پاسخ به یک‌سری شرایط فیزیولوژیکی یا پاتولوژیک به‌طور قابل‌توجهی تغییر می‌کند؛ بنابراین، استیل‌کوآ به‌عنوان حسگر متابولیک با پیام دادن تغییرات در متابولیسم عمل می‌کند که سپس این تغییرات به حالت‌های بیان ژن تبدیل می‌شود.

^۱. Histone acetyltransferases (HATs)

۹-۲-۱- بیوسنتز استیل کوآ

استیل کوآ شامل یک بخش استیل است که به کوآنزیم A، مشتق ویتامین B5 و سیستئین متصل است (شکل ۹-۱). استیل کوآ یک متابولیت مرکزی است که چندین مسیر متابولیک را به هم متصل می‌کند. استیل کوآ را در دو قسمت جداگانه در سلول می‌توان یافت: در میتوکندری و در هسته / سیتوزول (شکل ۹-۲). در دو قسمت جدا بودن استیل کوآ به این دلیل است که غشای داخلی میتوکندری نسبت به مولکول استیل-کوآی بسیار باردار، غیرقابل نفوذ است در حالی که منافذ هسته‌ای امکان می‌دهد استیل-کوآ آزادانه بین سیتوزول و هسته توزیع شود.



شکل ۹-۱: استیل کوآنزیم آ کوفاکتور هیستون استیل ترانسفرازها است. استیل کوآنزیم آ شامل یک بخش استیل است که به کوآنزیم A، مشتقی از ویتامین B5 و سیستئین متصل است. در این شکل استیلایون گروه ε-آمین لیزین توسط هیستون استیل ترانسفرازها نشان داده شده که به موجب آن گروه استیل استیل کوآ به لیزین منتقل می‌شود.

عمده استیل کوآ در میتوکندری تولید و مصرف می‌شود؛ جایی که به پیرووات حاصل از گلیکولیز^۱ امکان می‌دهد وارد چرخه‌های اسیدسیتریک شود (این چرخه، به چرخه اسید تری کربوکسیلیک یا چرخه کربس نیز معروف است). در قسمت سیتوزولی، استیل کوآ چندین واکنش آنابولیک، از جمله سنتز اسیدهای چرب و استیلایون استروئید و پروتئین را پشتیبانی می‌کند. در میتوکندری، از طریق دکربوکسیلاسیون پیرووات، استیل کوآ، CO₂ و NADH تولید می‌شود، این واکنش توسط

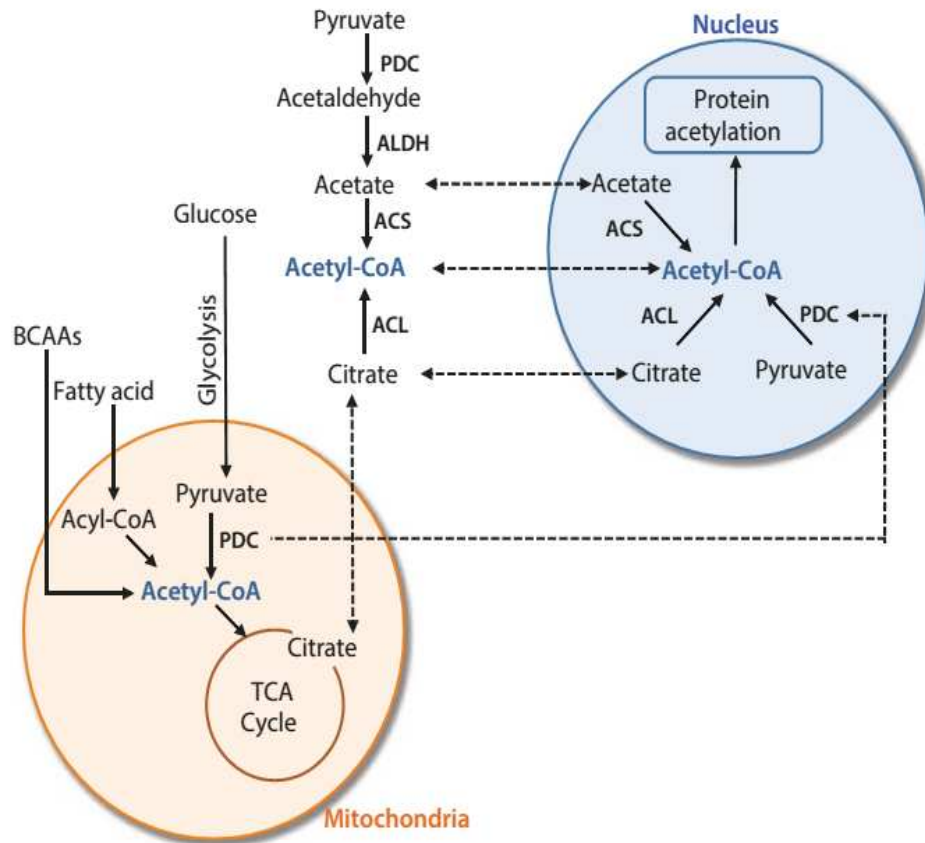
^۱. گلیکولیز یک مسیر سیتوپلاسمی است که گلوکز را به ترکیب سه کربنی تجزیه می‌کند و پیرووات و انرژی را به شکل ATP و NADH تولید می‌کند.

کمپلکس پیروات دهیدروژناز میتوکندری کاتالیز می‌شود (شکل ۹-۲). در غلظت بالای گلوکز، استیل‌کوآ معمولاً طی اکسیداسیون گلوکز تولید می‌شود، درحالی‌که در غلظت پایین گلوکز، استیل‌کوآ به‌عنوان محصول نهایی β اکسیداسیون اسیدهای چرب تولید می‌شود. استیل‌کوآ هم‌چنین می‌تواند توسط آمینواسیدهای شاخه‌دار، یعنی والین، لوسین و ایزولوسین از طریق ترانس آمیناسیون سیتوزولی به آلفا-کتواسیدهای شاخه‌دار تولید شود که متعاقباً وارد میتوکندری می‌شوند. در میتوکندری، طی واکنشی که توسط α -کتواسید شاخه‌دار دهیدروژناز میتوکندریایی کاتالیز می‌شود، NADH، استیل‌کوآ و سایر تیواسترهای آسیل‌کوآ تولید می‌شود. غیر از این شبکه‌های متابولیکی تقریباً حاضر در همه‌جا، استیل‌کوآ میتوکندریایی می‌تواند از طریق مسیرهای خاص اندام، تولید شود. میزان هسته‌ای-سیتوپلاسمی استیل‌کوآ در سلول‌های پستانداران عمدتاً با عمل تلفیقی دو آنزیم ایجاد می‌شود: ATP - سیترات‌لیاز^۱ و استیل-کوآ سنتتاز^۲ (شکل ۹-۲).

ATP - سیترات‌لیاز، سیترات را به استیل‌کوآ و اگزالواستات تبدیل می‌کند. این مخزن سیتوپلاسمی استیل‌کوآ می‌تواند از کربوکسیلاسیون احیایی گلوتامین نشأت بگیرد. گلوتامین سیتوزولی به گلوتامات تبدیل می‌شود، به میتوکندری منتقل می‌شود و به α -کتوگلوترات تبدیل می‌شود که سیترات را در چرخه کربس تولید می‌کند. در نهایت، سیترات می‌تواند به سیتوزول بازگردانده شود، جایی که توسط ATP-سیترات‌لیاز به اگزالواستات و استیل‌کوآ تبدیل می‌شود. استیل--کوآ سنتتاز از استات به‌عنوان سوبسترای برای ساختن استیل‌کوآ استفاده می‌کند. تولید استیل‌کوآ در داخل هسته نیز به‌دلیل وجود ATP-سیترات‌لیاز و استیل-کوآ سنتتاز در هسته امکان پذیر است. در ساکارومایسس سرویزیه، غیرفعال شدن استیل-کوآ سنتتاز منجر به داستیله شدن سریع هیستون و نقایص رونویسی می‌شود که نشان‌دهنده ارتباط مستقیم بین آنزیم‌های تولیدکننده استیل‌کوآ، تنظیم کروماتین و بیان ژن است. یک مسیر جدید برای سنتز استیل‌کوآ هسته‌ای اخیراً با نشان دادن اینکه کمپلکس پیروات دهیدروژناز می‌تواند از میتوکندری به هسته بر اثر تحریک فاکتور رشد منتقل شود، مطرح شده است (شکل ۹-۲).

¹. ATP-citrate lyase (ACL)

². Acetyl-CoA synthetase (ACS)



شکل ۹-۲: متابولیسم استیل کوآ در سلول‌های پستانداران. استیل کوآ را می‌توان در دو قسمت مجزا در سلول یافت: در میتوکندری و در هسته / سیتوزول. بیشتر استیل کوآ سلولی در میتوکندری تولید می‌شود و در واکنش‌های شامل متابولیسم اکسیداتیو پیرووات گلیکولیتیک، اسیدهای چرب آزاد، اسیدهای آمینه شاخه‌دار یا اجسام کتون که همگی وارد چرخه کربس می‌شوند، مصرف می‌شود. در قسمت سیتوزولی و هسته‌ای، استیل کوآ توسط ATP-سیترات‌لیاز و استیل-CoA سنتتاز تولید می‌شود. ATP-سیترات‌لیاز، سیترات را به اگزوالواستات و استیل کوآ تبدیل می‌کند. استیل-CoA سنتتاز از استات به‌عنوان سوبسترای برای ساختن استیل کوآ استفاده می‌کند. این واکنش‌ها از چندین واکنش آنابولیک، از جمله لیپوژنز، استروئیدوژنز و سنتز اسیدهای آمینه خاص پشتیبانی می‌کنند. کمپلکس پیرووات دهیدروژناز، ATP-سیترات‌لیاز و استیل-CoA سنتتاز نیز در هسته یافت می‌شوند و استیل کوآ را در آنجا تولید می‌کنند. نقش آن‌ها در هسته عمدتاً برای تولید استیل کوآ برای استیلایسون هیستون‌ها و پروتئین‌های غیرهیستونی است و در نتیجه بیان ژن را تنظیم می‌کند.

۹-۲-۲- استیل کوآ به عنوان کوفاکتور هیستون استیل ترانسفرازها

استیل کوآ کوفاکتور مورد نیاز هیستون استیل ترانسفرازها است که یک گروه استیل را به گروه E-آمین هیدروکسیل خاص لیزین متصل می کند (شکل ۹-۱). هیستون استیل ترانسفرازهای نوع B آنزیم های سیتوپلاسمی هستند که هیستون های آزاد در سیتوپلاسم را پس از ساخته شدن^۱ تغییر می دهند. هیستون استیل ترانسفرازهای نوع A عمدتاً آنزیم های هسته ای هستند و مسئولیت استیلایون هیستون ها و پروتئین های غیرهیستونی در هسته را به عهده داشته و در تنظیم اپی ژنتیکی بیان ژن نقش دارند (همچنین به فصل اول کتاب مراجعه کنید). در پاسخ به یک سری از شرایط فیزیولوژیکی یا پاتولوژیکی، قسمت بندی و نوسان غلظت استیل کوآ به طور قابل توجهی تغییر می کند و تأثیر عمده ای در استیلایون پروتئین دارد.

یک مثال مهم از نحوه پاسخ های ساخته شدن استیل کوآ به محرک ها و تحت تأثیر قراردادن استیلایون هیستون و بیان ژن توسط آزمایش هایی ارائه شده است که مطالعه روی رشد سویه های پروتروپیک^۲ مخمر را تحت یک محیط محدود کننده مواد مغذی انجام می دهند. در طول چرخه های متابولیک مخمر^۳، سلول ها از مراحل گذار هماهنگ بین سه فاز متابولیک که اکسیداتیو، احیایی و ساختن و احیایی و شارژ کردن نامیده می شوند، عبور می کنند. میزان استیل کوآ به شدت به عنوان تابعی از چرخه متابولیک مخمر در نوسان است. در فاز اکسیداتیو، تنفس میتوکندریایی به اوج خود می رسد و با القای سریع ژن های دخیل در رشد همراه است. در فاز احیایی و ساختن، میزان مصرف اکسیژن شروع به کاهش می کند و تقسیم سلولی آغاز می شود. در فاز احیایی و شارژ کردن، سلول ها وارد فاز ساکن و بدون تغییر می شوند و ژن های زیادی را بیان می کنند که با افزایش سرعت رشد همبستگی منفی دارند. در عبور از فاز احیایی و شارژ کردن به فاز اکسیداتیو، سلول ها دوباره وارد رشد می شوند. این مرحله زمانی با افزایش قابل توجهی در میزان استیل کوآ درون سلولی مشخص می شود که باعث ایجاد یک سری رویدادهای استیلایون هیستون می شود که توسط Spt - Ada - Gcn5- استیل ترانسفراز (SAGA)^۴ (همچنین به فصل دوم مراجعه کنید) در ژن های مهم برای رشد، کاتالیز می شود و به موجب آن رونویسی سریع و الزام آن ها به رشد را ممکن می سازد. اوج میزان استیل کوآ در مرز احیایی و ساختن/ اکسیداتیو احتمالاً با القای همه آنزیم های مورد نیاز برای تبدیل اتانول

^۱. توجه داشته باشید که استیلایون سیتوپلاسمی هیستون های تازه ساخته شده نقش مهمی در انتقال و سرهم بندی آنها به کروماتین ایفا می کند پس از گنجانده شدن در کروماتین، استیلایون سیتوپلاسمی در این هیستون های تازه ساخته شده توسط هیستون داستیلازها حذف می شود.

^۲. پروتوتروف به جانداران یا سلولی اطلاق می شود که قادر به ساختن تمام متابولیت های خود از مواد معدنی، بدون نیاز به مواد مغذی آلی است.

^۳. Yeast metabolic cycles (YMCs)

^۴. Spt-Ada-Gcn5-acetyltransferase (SAGA)

(تخمیر شده از طریق مصرف گلوکز در فاز احیایی و ساختن) به استالدئید، استات و در نهایت استیل کوآ هماهنگ می شود (کالین جونیور و مک نایت، ۲۰۱۳).

علاوه بر این، پیوند این مسیر متابولیک با استیلایسیون هیستون و بیان ژن با این واقعیت پشتیبانی می شود که استیل کوآ سنتاز که استیل کوآ را از استات تولید می کند، در هسته قرار دارد. در پستانداران، غلظت بالای استیل کوآ همچنین بنابه هزینه تمایز، مساعد برای رشد و تکثیر سلولی است. متابولیسم سلول های بنیادی جنینی اثر واربرگ^۱ را نشان می دهد، تغییر از فسفریلاسیون اکسیداتیو به گلیکولیز هوازی که توسط سلول های سرطانی^۲ نیز استفاده می شود؛ بنابراین، سلول های بنیادی جنینی استیل کوآ و استات را از طریق گلیکولیز تولید می کنند، با این حال، این مرحله پردازش به سرعت در طول تمایز فروتنظیم می شود. این سوئیچ متابولیک باعث از بین رفتن استیلایسیون هیستون در اولین ساعات تمایز می شود. ارتباط میزان استیل کوآ و حالت پرتوان توسط آزمایشاتی حمایت شد که نشان داد افزایش استات، پیش ساز استیل کوآ، تمایز سلول بنیادی جنینی را به تأخیر می اندازد و استیلایسیون اولیه هیستون را مسدود می کند، در حالی که مهار گلیکولیز منجر به داستیله شدن و تمایز سلول های بنیادی جنینی می شود (موسایف و همکاران، ۲۰۱۵).

نوسانات استیل کوآ در طول تمایز سلول بنیادی جنینی نیز با تغییرات در بیان ترئونین دهیدروژناز که ترئونین را به گلیسین و استیل کوآ در میتوکندری تبدیل می کند، با گلیسین که متابولیسم تک کربن و سنتز S-ادنوزیل متیونین برای DNA و متیلایسیون هیستون را تسهیل می کند (قسمت ۹-۴ را نگاه کنید) و استیل کوآ که وارد چرخه کربس می شود، همبسته شده است. نمونه دیگری از ارتباط بین متابولیسم و تنظیم ژن اپی ژنتیک، سلول های چربی هستند، سلول هایی که جزء اصلی بافت چربی هستند و در ذخیره انرژی به عنوان چربی تخصص دارند. در سلول های چربی، ATP-سیترات لیا، آنزیمی که سیترات مشتق شده از گلوکز را به استیل کوآ تبدیل می کند، برای افزایش استیلایسیون هیستون در پاسخ به تحریک فاکتور رشد و در طول تمایز لازم است؛ این موضوع نشان می دهد که در دسترس بودن گلوکز می تواند استیلایسیون هیستون را به روشی وابسته به ATP-سیترات لیا، تحت تأثیر قرار دهد (ولن و همکاران، ۲۰۰۹).

فراوانی محلی استیل کوآ در هسته نیز ممکن است بر فعالیت کاتالیتیکی هیستون استیل ترانسفراز اثر بگذارد و بیان ژن را با کنترل میزان استیلایسیون هیستون در ژن های خاص تنظیم کند. هیستون استیل ترانسفرازها یک ثابت تفکیک نسبتاً بالا (KD) برای استیل کوآ نشان می دهند و در

^۱. Warburg. effect

^۲. هنگامی که اکسیژن محدود می شود، سلول ها می توانند پیروات تولید شده توسط گلیکولیز را به دور از فسفریلاسیون اکسیداتیو میتوکندریایی، برای تولید لاکتات (اثر واربرگ) اختصاص دهند این نحوه تولید لاکتات طی گلیکولیز بی هوازی اجازه می دهد تا گلیکولیز ادامه یابد و در نتیجه میزان استیل-کوآ افزایش پیدا کند.

نتیجه تغییرات موضعی در غلظت استیل کوآ ممکن است بر فعالیت هیستون استیل ترانسفراز اثر بگذارد. مطالعات در مخمر نشان داده است که میزان استیل کوآ (۳ تا ۳۰ میکرومولار) ممکن است در محدوده‌ای برای محدود کردن فعالیت هیستون استیل ترانسفراز GCN5 که دارای ۸/۵ KD میلی مولار برای استیل کوآ است، نوسان کند. این حالت در مورد کینازها که از ATP به عنوان کوفاکتور برای فسفریله کردن استفاده می‌کنند، به دلیل غلظت بالای ATP سلولی (تقریباً میلی مولار در سلول‌ها) و تمایل نسبتاً بالای آن‌ها برای ATP (KD تقریباً میکرومولار) صادق نیست. همچنین شایان ذکر است که بسیاری از هیستون استیل ترانسفرازها در معرض مهار محصول توسط CoA آزاد هستند که نشان می‌دهد نسبت استیل-CoA/CoA ممکن است تنظیم‌کننده مربوط به فعالیت هیستون استیل ترانسفراز به جای میزان مطلق استیل کوآ باشد.

غلظت استیل کوآ نیز می‌تواند ویژگی سوبسترای هیستون استیل ترانسفرازها را تغییر دهد. لیزین استیل ترانسفرازهای CBP و p300 بسیاری از رزیدوهای لیزین معمولی را روی هیستون‌های H3 و H4 استیله می‌کنند. با این حال، تحت غلظت‌های محدود استیل کوآ، CBP و p300 ویژگی و گزینش متمایزی را نشان می‌دهند، p300 بالاترین ویژگی را برای H4K16 نشان می‌دهد که ^{۱۰۸} برابر بیشتر از CBP است.

۹-۳- نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید

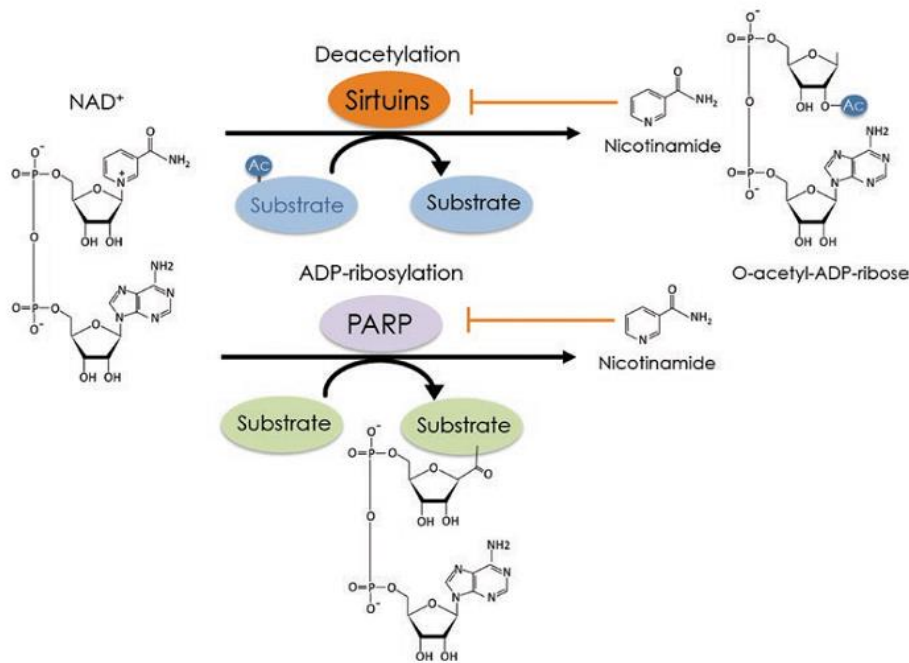
نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید (NAD) هم به عنوان یک کوفاکتور حیاتی برای آنزیم‌هایی که واکنش‌های اکسیداسیون-احیا را کاتالیز می‌کند و هم به عنوان یک همراه سوبسترا برای سه دسته از آنزیم‌ها: (۱) سیرتوئین‌ها، (۲) ADP-ریبوز ترانسفرازها^۲ و پلی (ADP-ریبوز) پلیمرازها^۳ و (۳) ADP-ریبوز سنتاز حلقوی^۴ عمل می‌کند (شکل ۹-۳) (وردین، ۲۰۱۵).

^۱. Sirtuins (SIRTs)

^۲. Adenosine diphosphate (ADP) ribose transferases (ARTs)

^۳. Poly(ADP-ribose) polymerases (PARPs)

^۴. Cyclic ADP-ribose (cADPR) synthases



شکل ۹-۳: نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید یک همراه سوستر را برای داستیلاسیون هیستون و ADP-ریبوزیلاسیون است. ساختار NAD در شکل اکسید شده آن (NAD⁺) نشان داده شده است. سیرتوئین ها گروه های استیل را از پروتئین های هدف حذف می کنند. در این واکنش، نیکوتین آمید از NAD جدا می شود و ADP-ریبوز به عنوان پذیرنده گروه استیل حذف شده عمل می کند. ADP-ریبوز ترانسفرازها و پلی (ADP-ریبوز) پلیمرها بخش ADP-ریبوز را از NAD به پروتئین هدف منتقل می کنند و نیکوتین آمید را آزاد می کنند. نیکوتین آمید همچنین به عنوان یک عامل بازدارنده سیرتوئین ها، ADP-ریبوز ترانسفرازها و پلی (ADP-ریبوز) پلیمرها عمل می کند.

۹-۳-۱- بیوسنتز NAD

NAD از منابع غذایی مختلف، از جمله اسید نیکوتینیک (همچنین به عنوان ویتامین B3، یک ماده مغذی ضروری انسان شناخته می شود) و نیکوتین آمید، تریپتوفان و ریبوزید نیکوتین آمید می تواند ساخته شود. منبع غذایی اصلی NAD اسید نیکوتینیک است. میزان NAD توسط سه مسیر مستقل حفظ می شود: مسیر Preiss-Handler، مسیر کینورین و مسیر بازیافت NAD (شکل ۹-۴). در مسیر Preiss-Handler، اسیدنیکوتینیک رژیم غذایی و آنزیم نیکوتینیک اسید فسفوریبوزیل ترانسفراز^۱، نیکوتینیک اسید مونونوکلئوتید^۲ تولید می کند که به نوبه خود توسط نیکوتین آمید مونونو

^۱. Nicotinic acid phosphoribosyltransferase (NAPRT)

^۲. Nicotinic acid mononucleotide (NAMN)

کلئوتید آدنیلل ترانسفراز^۱ به نیکوتینیک اسید آدنین دی نوکلئوتید^۲ در حضور ادنوزین تری فسفات اسید تبدیل می شود. نیکوتین آمیدمونو نوکلئوتید آدنیلل ترانسفراز دارای سه شکل با موقعیت زیرسلولی مجزا است: نیکوتین آمیدمونو نوکلئوتید آدنیلل ترانسفراز^۱ در هسته، نیکوتین آمیدمونو نوکلئوتید آدنیلل ترانسفراز^۲ در سیتوزول و گلژی و نیکوتین آمیدمونو نوکلئوتید آدنیلل ترانسفراز^۳ در سیتوزول و میتوکندری. مسیر کینورنین NAD را از تریپتوفان تولید می کند و به مسیر-Preiss-Handler می پیوندد؛ زیرا ۲-آمینو-۳-کربوکسی موکونات سمی آلدئید خودبه خود دستخوش تراکم می شود و به اسیدکینولینیک بازآرایی می شود که در نهایت به نیکوتینیک اسیدمونونوکلئوتید تبدیل می شود.

مسیر بازیافت NAD یک مسیر کلیدی برای حفظ میزان NAD سلولی است؛ زیرا نیکوتین آمید تولیدشده به عنوان محصول جانبی فعالیت های آنزیمی آنزیم های مصرف کننده NAD، سیرتوئین ها، ADP-ریبوز ترانسفرازها و پلی (ADP-ریبوز) پلیمرها را بازیافت می کند. نیکوتین آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز^۳ نیکوتین آمید را به نیکوتین آمیدمونو نوکلئوتید بازیافت می کند که سپس از طریق نیکوتین آمیدمونو نوکلئوتید آدنیلل ترانسفرازهای مختلف مانند مسیر Preiss-Handler به NAD تبدیل می شود. همان طور که در ۹-۳-۲، بحث خواهد شد نیکوتین آمید همچنین به عنوان یک عامل بازدارنده سیرتوئین ها، ADP-ریبوز ترانسفرازها و پلی (ADP-ریبوز) پلیمرها عمل می کند (شکل ۹-۳). در نتیجه، مسیر بازیافت NAD نه تنها منجر به بازیافت نیکوتین آمید به NAD می شود، بلکه مهار توسط نیکوتین آمید آنزیم های مصرف کننده NAD را نیز کاهش می دهد.

میزان NAD سلولی در طی فرایند پیری تقویمی و در حالت های پروژروئید^۴ کاهش پیدا می کند. میزان NAD در حیواناتی که تحت رژیم غذایی پرچرب نگهداری می شوند کاهش می یابد، درحالی که NAD تحت ورزش و محدودیت کالری افزایش پیدا می کند. رابطه بین میزان NAD و وضعیت تغذیه ای جاندار نیز در مطالعات مربوط به ساعات شبانه روزی تأیید شده است. ساعات شبانه روزی توسط یک حلقه بازخورد رونویسی-ترجمه رمزگذاری می شود که رفتار و متابولیسم را با چرخه نور-تاریکی هماهنگ می کند. هم بیان نیکوتین آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز، آنزیم محدودکننده سرعت در مسیر بازیافت NAD و هم میزان چرخه NAD با ریتم ۲۴ ساعته توسط ماشین ساعت مرکزی در موش ها تنظیم می شود.

^۱. Nicotinamide mononucleotide adenylyltransferase (NMNAT)

^۲. Nicotinic acid adenine dinucleotide (NAAD)

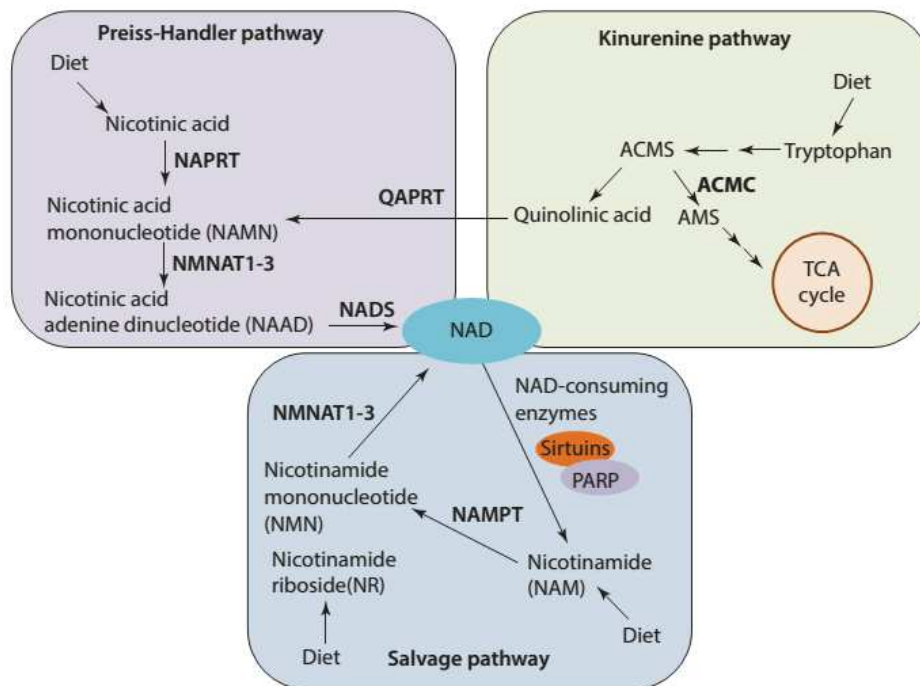
^۳. Nicotinamide phosphoribosyltransferase (NAMPT)

^۴. سندرم های پروژروئید گروهی از اختلالات ژنتیکی نادری هستند که پیری فیزیولوژیکی مانند ریزش مو، کوتاهی قد، سفتی پوست، بیماری های قلبی عروقی و پوکی استخوان را تسریع می کنند.

نیکوتین آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز در کاهش میزان NAD سلولی مرتبط با پیری نقش دارد. بیان نیکوتین آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز طی افزایش سن، کاهش پیدا می کند و بیان اجباری نیکوتین آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز پیری را به تاخیر می اندازد و به طور قابل توجهی طول عمر سلول را افزایش می دهد. علاوه بر این، بیان ترانس ژن *Nampt* ویژه عضله مادام العمر باعث حفظ میزان NAD عضله و ظرفیت ورزش در موش های مسن شد (فردریک و همکاران، ۲۰۱۶).

ارتباط بین میزان NAD و افزایش سن، تلاش های قابل توجهی را برای تغییر غلظت NAD در درمان هایی با هدف پیشگیری از بیماری و افزایش طول عمر به جریان انداخته است. رویکردهای داروشناسی که توانایی افزایش دسترسی به NAD را دارند به عنوان تیمارهای درمانی بالقوه برای اختلالات مختلف انسانی بررسی شده اند. نیکوتین آمید ریبوز یک پیش ساز NAD است که توانایی عبور از غشای پلاسمایی را دارد و فعالیت سیرتوئین ها و پلی (ADP-ریبوز) پلیمرها را مهار نمی کند. نشان داده شد که مکمل رژیم غذایی با نیکوتین آمید ریبوز باعث القای پاسخ پروتئین آنفولد میتوکندریایی و سنتز پروتئین های پروهیپیتین، جوان سازی سلول های بنیادی عضلانی در موش های مسن و در مدل موش دیستروفی عضلانی می شود (ژانگ و همکاران، ۲۰۱۶).

به طور مشابه، نشان داده شده است که تجویز حد واسط NAD، NMN، محصول واکنش نیکوتین آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز، باعث افزایش بیوسنتز NAD و کاهش ملایم فیزیولوژیکی مرتبط با سن در موش ها می شود. نشان داده شد که مکمل NMN افزایش وزن بدن مرتبط با سن را سرکوب می کند، متابولیسم انرژی را افزایش می دهد، فعالیت بدنی را تقویت می کند، حساسیت به انسولین و پروفایل لیپیدی پلاسما را بهبود می بخشد و کاهش عملکرد چشم و سایر پاتوفیزیولوژی ها را بهبود می بخشد (میلز و همکاران، ۲۰۱۶).



شکل ۹-۴: مسیرهای بیوسنتزی NAD. سه مسیر مستقل (Preiss-Handler، کینورنین و مسیرهای بازیافت) میزان NAD را حفظ می‌کنند. در مسیر Preiss-Handler، آنزیم NAPRT اسیدنیکوتینیک را به نیکوتینیک اسیدمونو نوکلئوتید تبدیل می‌کند که سپس توسط نیکوتین آمیدمونو نوکلئوتید آدنیلیل ترانسفراز ۱-۳ به نیکوتینیک اسید آدنین دی نوکلئوتید تبدیل می‌شود. NAD از نیکوتینیک اسید مونونوکلئوتید از طریق واکنش کاتالیز شده توسط NAD سنتاز تولید می‌شود. در مسیر کینورنین، NAD از تریپتوفان تولید می‌شود. تراکم خودبه‌خودی ACMS و بازیابی به اسیدکینولینیک باعث می‌شود مسیر کینورنین به مسیر Preiss-Handler برای تولید NAD همگرا شود. مسیر بازیافت NAD نیکوتین‌آمید تولیدشده را به‌عنوان محصول جانبی فعالیت‌های آنزیمی آنزیم‌های مصرف‌کننده NAD، سیرتوئین‌ها، ADP-ریبوز ترانسفرازها و پلی ADP-ریبوز پلیمرها بازیافت می‌کند. نیکوتین‌آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز از نیکوتین‌آمید برای تولید NMN استفاده می‌کند که سپس از طریق نیکوتین آمیدمونو نوکلئوتید آدنیلیل ترانسفرازهای مختلف مانند مسیر Preiss-Handler به NAD تبدیل می‌شود. نیکوتینیک اسید فسفوریبوزیل ترانسفراز (NAPRT)، نیکوتینیک اسید مونونوکلئوتید (NAMN)، نیکوتینیک اسید آدنین دی نوکلئوتید (NAAD)، نیکوتین‌آمید مونو نوکلئوتید آدنیلیل ترانسفراز (NMNAT1-3)، ۲-آمینو-۳-کربوکسی موکونات سمی آلدئید (ACMS)، نیکوتین‌آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز (NAMPT)، نیکوتین‌آمید مونو نوکلئوتید (NMN).

۹-۳-۲- NAD به عنوان کوفاکتور سیرتوئین ها و پلی (ADP-ریبوز) پلیمرازها

NAD یک کوفاکتور حیاتی برای سیرتوئین ها، ADP-ریبوز ترانسفرازها و پلی (ADP-ریبوز) پلیمرازها است. اگرچه این سه دسته از آنزیم ها از NAD استفاده می کنند، اما نقش های عملکردی مشخصی دارند. در بخش های بعدی، نقش آنزیم های سیرتوئین و پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز و تنظیم آن ها که با واسطه میزان NAD انجام می شود، بحث خواهد شد.

۹-۳-۲-۱- سیرتوئین ها

سیرتوئین ها هیستون دآسیلازهای کلاس III هستند که گروه های آسیل را از رزیدیوهای لیزین روی پروتئین ها به شیوه وابسته به NAD حذف می کنند (شکل ۹-۳). NAD به نیکوتین آمید و ADP-ریبوز شکسته می شود و ADP-ریبوز به عنوان یک پذیرنده آسیل عمل می کند و باعث تولید آسیل-ADP-ریبوز می شود.

در سلول های پستانداران، هفت سیرتوئین، سیرتوئین ۱-۷ وجود دارد که در بخش های سلولی مجزا قرار دارند و بنابراین می توانند پاسخ های سلولی را با محدودیت کالری هماهنگ کنند. سیرتوئین ۱، سیرتوئین ۶ و سیرتوئین ۷ در هسته قرار دارند؛ جایی که آن ها برای داستیله کردن هیستون ها عمل می کنند و در نتیجه بر بیان ژن تأثیر می گذارند. سیرتوئین ۲ هم یک سیرتوئین سیتوزولی و هم هسته ای است و کنترل چرخه سلولی را تعدیل می کند. سیرتوئین ۳، سیرتوئین ۴ و سیرتوئین ۵ سیرتوئین های میتوکندریایی هستند و با تغییر سلول ها برای حمایت از متابولیسم اکسیداتیو میتوکندری، به محدودیت کالری پاسخ می دهند (چانگ و گوارنت، ۲۰۱۴).

عملکرد سیرتوئین به طور ذاتی با متابولیسم سلولی مرتبط است. در طول دو دهه گذشته، شواهد جمع آوری شده نشان می دهد که سیرتوئین ها پروتئین های حفاظت شده، حساس به رژیم غذایی و ضدپیری هستند. نشان داده شده است که محدودیت کالری، کاهش کالری دریافتی (۱۰ تا ۴۰٪) بدون سوءتغذیه، طول عمر و مدت زمان سلامتی را در تمام جاندارانی که در آن ها آزمایش شده است، افزایش می دهد. علاوه بر این، همان طور که در بالا بحث شد، میزان NAD با افزایش سن کاهش می یابد که منجر به کاهش فعالیت سیرتوئین می شود. مطالعات اولیه در موش ساکاروما یسس سرویزیه نشان داد که افزایش طول عمر ناشی از محدودیت کالری نیاز به فعال سازی تنظیم کننده اطلاعات خاموش پروتئین سیرتوئین ۲ توسط NAD دارد (لین و همکاران، ۲۰۰۰).

از آن زمان، چندین مطالعه دیگر بر روی مگس ها و کرم ها اثرات افزایش طول عمر همولوگ های سیرتوئین ۲ را تأیید کرده اند که بر اهمیت تکاملی سیرتوئین ۲ در افزایش طول عمر تأکید دارد. مطالعات روی موش ها همچنین نقش سیرتوئین ها را در تنظیم پیری و طول عمر در پستانداران نشان

داد. موش‌های تراریخته که بیش از حد سیرتوئین^۱ و سیرتوئین^۶ را بیان می‌کنند، فنوتیپ‌های سازگار با تأخیر در پیری را نشان می‌دهند.

سیرتوئین^۱ به عنوان یک تنظیم‌کننده کروماتین با داستیله کردن رزیدیوهای خاص هیستون استیله شده (مانند H3K9ac, H3K14ac و H4K16ac) و همچنین عوامل رونویسی مانند TP53, NF- κ B و FOXO3a عمل می‌کند. فراوانی پروتئین سیرتوئین^۱ نسبتاً پایدار است، اما فعالیت داستیلاز آن به نیکوتین‌آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز برای تولید NAD بستگی دارد. یک مثال مهم با تنظیم فعالیت سیرتوئین^۱ در تنظیم ساعات شبانه‌روزی ارائه شده است. سیرتوئین^۱ برای پروموتور نیکوتین‌آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز که مهارکننده بیان نیکوتین‌آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز که یک آنزیم کلیدی مسیر بازیافت NAD است، به خدمت گرفته می‌شود و بنابراین به سنتز شبانه‌روزی کوآنزیم خود کمک می‌کند. مهار نیکوتین‌آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز با آزاد کردن CLOCK:BMAL1 از سرکوب توسط سیرتوئین^۱، نوسان ژن ساعت Per2 را پیش می‌برد. به نوبه خود، عامل رونویسی شبانه‌روزی CLOCK به نیکوتین‌آمید فسفوریبوزیل ترانسفراز متصل می‌شود و آن را فراتنظیم می‌کند، بنابراین یک حلقه بازخورد شامل NAMPT/NAD و SIRT1/CLOCK:BMAL1 را تکمیل می‌کند. محدودیت کالری میزان پروتئین سیرتوئین^۱ را افزایش می‌دهد و باعث فعال‌سازی عصبی در هسته‌های پشتی میانی و جانبی هیپوتالاموس می‌شود. افزایش سیرتوئین^۱ در مغز موش‌های تراریخته، فعالیت عصبی را به‌ویژه در هسته‌های هیپوتالاموس و فعالیت بدنی را در پاسخ به الگوهای مختلف محدودکننده رژیم غذایی افزایش می‌دهد. با این حال، بیان بیش از حد متوسط سیرتوئین^۱ در کل موجودزنده به اندازه کافی قوی نبود که بر طول عمر تأثیر بگذارد، اگرچه موش‌های پیر میزان پایین‌تری از آسیب DNA، کاهش بیان ژن تنظیم‌کننده چرخه سلولی و مرتبط با پیری p16Ink4a، سلامت عمومی بهتر و سارکوماها و کارسینوم‌های خودبه‌خودی کمتر را نشان دادند. مشخص شده است که مداخلات دارویی برای افزایش فعالیت سیرتوئین^۱، شروع پیری را کاهش می‌دهد و بیماری‌های مرتبط با سن را به تأخیر می‌اندازد. این مفهوم در موش‌های تحت درمان با پلی‌فنل رسوراترول طبیعی تأیید شده است که سیرتوئین^۱ را فعال می‌کند و تغییرات مرتبط با طول عمر طولانی‌تر از جمله افزایش حساسیت به انسولین، کاهش میزان عامل رشد شبه انسولین-۱ (IGF-1)، افزایش پروتئین کیناز فعال‌شده با AMP^۲ و افزایش فعالیت PGC-1 α ^۳، افزایش تعداد میتوکندری و بهبود عملکرد حرکتی ایجاد می‌کند (باور و همکاران، ۲۰۰۶).

^۱. توجه داشته باشید که *p16Ink4a* اغلب در سرطان از طریق متیلاسیون DNA خاموش می‌شود. (فصل هشتم را ببینید)

^۲. AMP-activated protein kinase (AMPK)

^۳. Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma coactivator (PGC)-1 α

مانند سیرتوئین ۱، بیان سیرتوئین ۶ نیز با طول عمر مرتبط است. سیرتوئین ۶، کروماتین تلومری را از طریق ارتباط آن با تلومرها و داستیل‌ه کردن H3K9ac که برای ارتباط پایدار WRN لازم است، تعدیل می‌کند. ژن WRN در اختلال پیری زودرس سندرم ورنر دچار جهش می‌شود. بر این اساس، سلول‌های تهی‌شده سیرتوئین ۶، پیری سلولی زودرس را نشان می‌دهند و ساختارهای تلومر غیرطبیعی را که شبیه نقص‌های مشاهده‌شده در سندرم ورنر است، به نمایش می‌گذارند.

هفت عضو خانواده سیرتوئین اهداف بالقوه‌ای برای درمان آسیب‌شناسی‌های انسانی از جمله بیماری‌های عصبی، بیماری‌های قلبی عروقی و سرطان در نظر گرفته می‌شوند. عمل سیرتوئین‌ها به‌عنوان بازیگران اپی ژنتیکی در تنظیم مسیرهای زیستی بنیادی، تلاش‌های بیشتری را برای کشف مولکول‌های کوچکی که قادر به تغییر فعالیت سیرتوئین هستند، برانگیخته است.

۹-۳-۲- پلی (ADP-ریبوز) پلیمرازها

گروه دیگری از آنزیم‌هایی که از NAD به‌عنوان سوبسترا استفاده می‌کنند و میزان NAD سلولی را تنظیم می‌کنند، آنزیم‌های پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز هستند (شکل ۹-۳). ۱۷ آنزیم مرتبط با پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز وجود دارد. پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز ۱ و پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز ۲ پلیمریزاسیون واحدهای ADP-ریبوز از NAD را کاتالیز می‌کنند که منجر به اتصال پلیمرهای خطی یا شاخه‌دار پلی (ADP-ریبوز)^۱ به خود یا سایر پروتئین‌های هدف می‌شود.

بسیاری از مطالعات اولیه در مورد پلی (ADP-ریبوز) پلیمرازها و ADP-ریبوزیلاسیون با پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز ۱، فراگیرترین و فراوان‌ترین عضو خانواده پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز انجام شد. پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز ۱ در تنظیم اپی ژنتیک و کروماتین نقش دارد. پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز ۱ می‌تواند ساختار کروماتین را تعدیل و به‌عنوان یک تنظیم‌کننده رونویسی عمل کند. شواهد اولیه از نقش پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز ۱ در تنظیم ساختار کروماتین از مطالعات پیشگامی ناشی می‌شود که گزارش می‌دهد پلی (ADP-ریبوزیلاسیون) نوکلئوزوم‌ها باعث تراکم‌زدایی کروماتین در شرایط آزمایشگاهی می‌شود (پویریر و همکاران، ۱۹۸۲). در مگس سرکه، فعال‌سازی پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز ۱ باعث تراکم‌زدایی کروماتین در پاسخ به شوک حرارتی یا سایر مسیرهای پیام‌دهی سلولی می‌شود (تولین و اسپرادلینگ، ۲۰۰۳). بر این اساس، هیستون H1 و پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز ۱ الگوی متقابل اتصال کروماتین را در بسیاری از پروموتورهای رونویسی‌شده RNA پلیمراز II نشان می‌دهند. پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز ۱ غنی شد، درحالی‌که H1 در این پروموتورها تخلیه شد.

¹. poly-(ADP-ribose) (PAR)

علاوه بر این، پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز^۱ می تواند با تغییر عملکرد اجزای ماشین رونویسی، به عنوان همراه تنظیم کننده عمل کند.

پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز^۱ به شدت با آسیب DNA فعال می شود و از طریق تولید زنجیره های طولانی پلی (ADP-ریبوز) منجر به مصرف مقدار زیادی NAD سلولی می شود. پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز^۱ و سیرتوئین^۱، Km مشابهی برای NAD دارند (پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز^۱ ۵۰-۹۷ میکرومولار؛ سیرتوئین^۱ ۹۴-۱۹۶ میکرومولار). در نتیجه، پس از فعال سازی پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز^۱، کاهش غلظت NAD باید منجر به کاهش فعالیت سیرتوئین^۱ شود. موش های PARP1 KO بسیاری از جنبه های فعالیت سیرتوئین^۱ مانند محتوای میتوکندری بالاتر، افزایش مصرف انرژی و محافظت در برابر بیماری های متابولیک را فنوکپی کردند. مهار فارماکولوژیک پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز^۱، محتوای NAD و فعالیت سیرتوئین^۱ را افزایش می دهد و متابولیسم اکسیداتیو را تقویت می کند. جالب توجه است که اثرات تقویت کننده NAD مهار پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز^۱، فعالیت سیرتوئین^۱ در هسته را تقویت می کند، اما فعالیت سیرتوئین^۲ در سیتوپلاسم یا سیرتوئین^۳ در میتوکندری را افزایش نمی دهد. این یافته نشان می دهد که NAD به طور مستقل در بخش های مختلف سلولی تنظیم می شود. با این حال، نقش پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز^۱ در پیری و طول عمر هنوز مشخص نیست.

مهارکننده های پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز^۱ در حال حاضر در مدیریت تومورهایی با ژن های حساس سرطان پستان ناکارآمد یا غایب مانند سرطان پستان و تخمدان استفاده می شوند.

^۱. استفاده از یک مهارکننده پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز در سرطان های دارای نقص ژن حساس سرطان پستان اولین نمونه از کاربرد بالینی مفهوم کشتندگی مصنوعی است ژن های حساس سرطان پستان ۷۲ پروتئین هایی را تولید می کنند که نقش مهمی در ترمیم شکستگی های DNA دورشته ای با نوترکیبی همولوگ دارند در حالی که سلول های طبیعی می توانند شکستگی های DNA دورشته ای را از طریق نوترکیبی همولوگ که بدون خطا است، ترمیم کنند، از دست دادن عملکرد ژن حساس سرطان پستان سلول ها را مجبور می کند تا شکستگی های DNA دورشته ای را از طریق اتصال انتهای غیرهمولوگ NHEJ یا زیر مسیر آنیلینگ تک رشته ای نوترکیبی همولوگ ترمیم کنند؛ هر دو مکانیسم مستعد خطا و بی ثباتی ژنومی هستند.

PARP1- Ftnote و ^۲، در ترمیم شکست DNA تک رشته ای نقش دارند بازدارنده های پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز کمپلکس پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز و توقف های تکثیر DNA را به دام می اندازند و شکست های DNA تک رشته را به شکستگی های DNA دورشته ای تبدیل می کنند هنگامی که مهارکننده های پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز به سلول هایی با نوع وحشی ژن حساس سرطان پستان ۷۲ داده می شود، سلول ها موفق می شوند شکستگی های DNA دورشته ای را از طریق نوترکیبی همولوگ ترمیم کرده و زنده بمانند با این حال، پس از تجویز مهارکننده های پلی (ADP-ریبوز) پلیمراز، سلول های توموری با ژن های جهش یافته حساس سرطان پستان ۷۲ قادر به ترمیم و مرگ سلولی نیستند.

۹-۴-S-آدنوزیل متیونین^۱

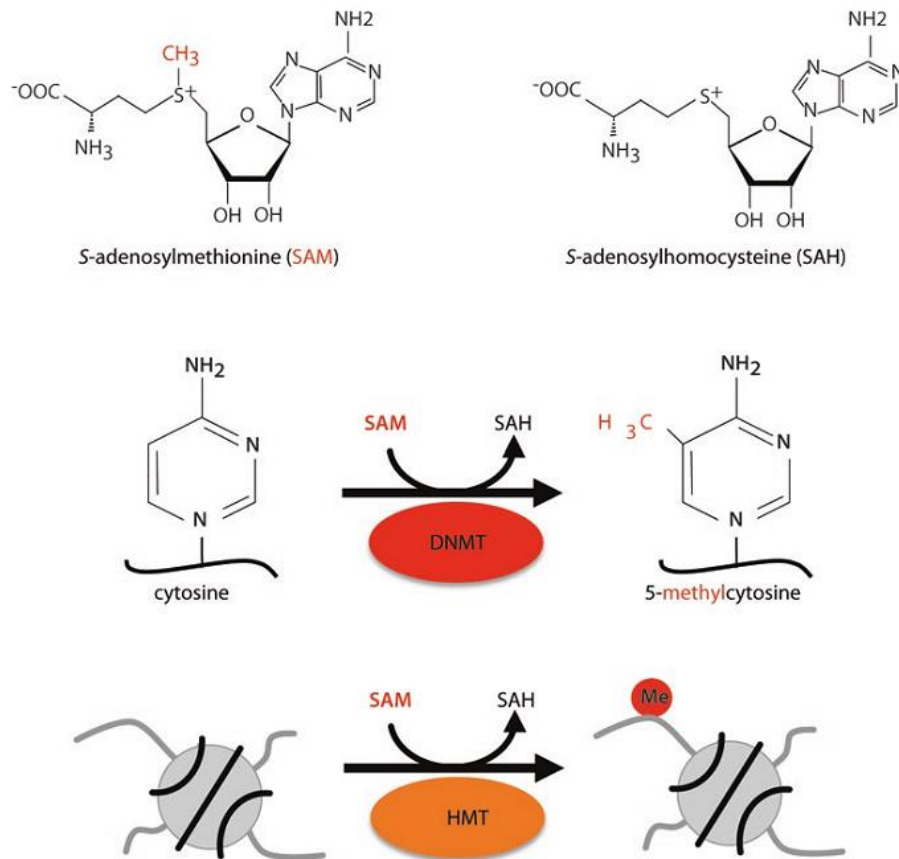
S-آدنوزیل متیونین کوفاکتور DNA و هیستون متیل ترانسفرازها است و دومین کوفاکتور آنزیمی رایج بعد از ATP است (شکل ۹-۵).

۹-۴-۱- بیوسنتز S-آدنوزیل متیونین

S-آدنوزیل متیونین نقش عمده‌ای در اپی ژنتیک، فرایندهای بیوسنتزی از جمله فسفاتیدیل کولین، کراتین و سنتز پلی آمین و هم‌چنین متابولیسم سولفور ایفا می‌کند (داکر و رابینوویتز، ۲۰۱۷). گروه متیل S-آدنوزیل متیونین به‌عنوان دهنده برای واکنش‌های ترانس‌متیل ترانسفراز عمل می‌کند و سپس به S-آدنوزیل هوموسیستئین^۲ تبدیل می‌شود که یک مهارکننده قوی تمام متیل ترانسفرازها است (شکل ۹-۵).

^۱. S-adenosylmethionine (SAM)

^۲. S-adenosylhomocysteine. (SAH)



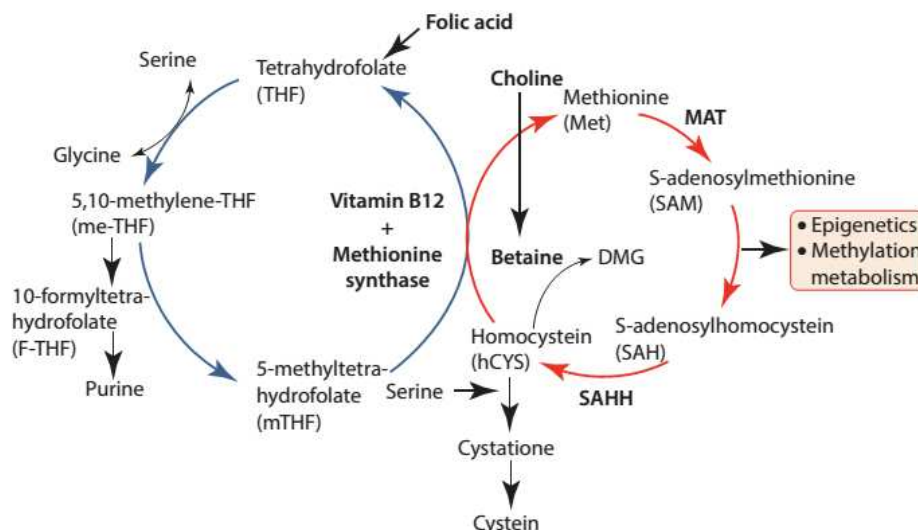
شکل ۹-۵: S-آدنوزیل متیونین کوفاکتور DNA و هیستون متیل ترانسفرازها است. S-آدنوزیل متیونین و S-آدنوزیل هوموسیستئین نشان داده شده‌اند. S-آدنوزیل متیونین کوفاکتور DNA متیل ترانسفراز و هیستون متیل ترانسفراز است. گروه متیل S-آدنوزیل متیونین به‌عنوان دهنده برای واکنش‌های ترانس متیل ترانسفراز عمل می‌کند. سپس S-آدنوزیل متیونین به S-آدنوزیل هوموسیستئین تبدیل می‌شود که یک مهارکننده قوی تمام متیل ترانسفرازها است.

تولید S-آدنوزیل متیونین و کنترل آن در متیلاسیون DNA و هیستون‌ها نمونه بارزی است که چگونه رژیم غذایی و تغذیه می‌تواند بر اپی ژنوم تأثیر بگذارد. S-آدنوزیل متیونین از طریق متابولیسم تک‌کربنی تولید می‌شود که چرخه فولات و چرخه متیونین را ترکیب می‌کند (شکل ۹-۴). متابولیسم تک‌کربنی، یک یکپارچه‌کننده وضعیت مواد مغذی مبتنی بر اسیدهای آمینه، گلوکز و ویتامین‌ها است. محصولات تولیدشده در این مسیرها در فرایندهای سلولی متنوعی دخیل هستند که شامل بیوسنتز

سلولی، تنظیم وضعیت اکسیداسیون و احیا، تنظیم اپی ژنتیک از طریق متیلاسیون اسیدنوکلئیک و پروتئین و حفظ ژنوم از طریق تنظیم خزانه نوکلئوتیدی است.

مواد مغذی ای که متابولیسم تک کربنی را تأمین می کنند، فولات، سرین و گلیسین هستند. سرین و گلیسین می تواند به صورت از نو ساخته شود. در مقابل، فولات می تواند توسط گیاهان و بیشتر میکروارگانیسم ها ساخته شود، در حالی که حیوانات به مصرف فولات در رژیم غذایی نیاز دارند. در سلول ها، فولات توسط دی هیدروفولات ردوکتاز^۱ به تتراهیدروفولات احیا می شود. تتراهیدروفولات وارد چرخه فولات می شود و به عنوان داربستی عمل می کند که گروه های یک کربنی را در واکنش های مختلف از جمله تولید متیل-THF (mTHF) حمل می کند. چرخه فولات از طریق دمتیلاسیون mTHF با چرخه متیونین جفت می شود که تتراهیدروفولات را بازتولید می کند و به متیلاسیون هموسیستئین امکان می دهد تا متیونین را از طریق متیونین سنتاز و کوفاکتور آن ویتامین B12 تولید کند. متیونین آدنیل ترانسفراز با ATP به عنوان کوفاکتور، متیونین را به S-آدنوزیل متیونین تبدیل می کند که سپس دمتیله می شود تا S-آدنوزیل هموسیستئین تشکیل شود. دادنیلاسیون S-آدنوزیل هموسیستئین توسط S-آدنوزیل هموسیستئین هیدرولاز باعث تولید هموسیستئین می شود که منجر به چرخش کامل چرخه متیونین می شود.

¹. Dihydrofolate reductase (DHFR)



شکل ۹-۶: متابولیسم تک کربنی. S-آدنوزیل متیونین توسط متابولیسم تک کربنی تولید می‌شود که چرخه فولات و چرخه متیونین را ترکیب می‌کند. مواد مغذی‌ای که متابولیسم تک کربنی را تأمین می‌کنند عبارت‌اند: از فولات، سرین و گلیسین. دی‌هیدروفولات ردوکتاز، فولات را به تتراهیدروفولات احیا می‌کند سپس آن وارد چرخه فولات می‌شود و به‌عنوان داربستی عمل می‌کند که گروه‌های یک کربنی را در واکنش‌های مختلف از جمله تولید mTHF حمل می‌کند. چرخه فولات از طریق ویتامین B12 با چرخه متیونین جفت می‌شود که به‌عنوان کوفاکتور برای دمتیلاسیون mTHF و تولید متیونین توسط متیونین سنتاز عمل می‌کند. آنزیم متیونین آدنیل ترانسفراز، متیونین را به S-آدنوزیل متیونین تبدیل می‌کند که سپس دمتیله می‌شود تا S-آدنوزیل هموسیستئین تشکیل شود. دادنیلاسیون S-آدنوزیل هموسیستئین توسط هموسیستئین هیدرولاز باعث تولید hCYS می‌شود که منجر به چرخش کامل چرخه متیونین می‌شود. دی‌هیدروفولات ردوکتاز (DHFR)؛ تتراهیدروفولات (THF)؛ متیل-THF (mTHF)؛ هموسیستئین (hCYS)؛ متیونین آدنیل ترانسفراز (MAT)؛ S-آدنوزیل هموسیستئین هیدرولاز (SAHL).

۹-۴-۲- S-آدنوزیل متیونین به‌عنوان کوفاکتور DNA و هیستون متیل ترانسفرازها

آنزیم‌هایی که از S-آدنوزیل متیونین به‌عنوان کوفاکتور استفاده می‌کنند، DNA متیل ترانسفرازها، لیزین متیل ترانسفرازها و پپتیدیل آرژینین متیل ترانسفرازها هستند. کراس تاک بین متابولیسم و کروماتین توسط خواص سینتیک هر آنزیم و غلظت فیزیولوژیکی متابولیت‌ها تنظیم می‌شود. این امر به‌ویژه برای متیل ترانسفرازها و استیل ترانسفرازها مهم است (همچنین به بخش ۹-۲-۲ مراجعه کنید) که به تغییرات متابولیسم به‌دلیل غلظت‌های فیزیولوژیکی پایین سوبستراهای متابولیکی که فعالیت آنزیمی آن‌ها را محدود می‌کند، پاسخ می‌دهند.

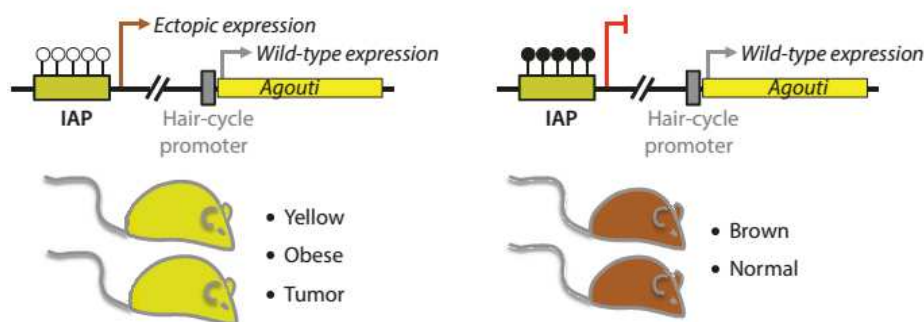
رقابت برای S-آدنوزیل متیونین موجود ممکن است رویدادهای متیلاسیون متضاد را تنظیم کند، مانند متیلاسیون هیستون H3K4 که با فعالیت رونویسی مرتبط است و متیلاسیون DNA و هیستون H3K9 که با خاموش کردن رونویسی مرتبط است؛ بنابراین، تغییرات در متابولیسم تک کربنی و از این رو، تغییرات در میزان S-آدنوزیل متیونین، می تواند بر بیان ژن تأثیر بگذارد. به عنوان مثال، مقادیر کم گروه های دهنده متیل خارجی از منابع غذایی می تواند غلظت S-آدنوزیل متیونین را کاهش داده و بر بیان ژن تأثیر بگذارد. یک مثال مهم از چگونگی تأثیر مواد مغذی بر اپی ژنوم، مدل موش آگوتی است که در آن محتوای جیره متیل مادر بر رنگ پوشش فرزندان تأثیر می گذارد (شکل ۷-۹ و ۸-۹).

ژن آگوتی موش، یک مولکول پیام دهی پاراکرین را رمز می کند که به ملانوسیت های فولیکولی پیام می دهد تا به جای تولید یوملانین سیاه، فائوملانین زرد تولید کنند. ژن آگوتی (*a*) به طور گزرا در فولیکول های مو بیان می شود و در نتیجه یک نوار زرد زیر رآسی روی هر موی سیاه ایجاد می شود که باعث رنگ پوست قهوه ای (آگوتی) موش های نوع وحشی می شود. آلل زرد رنگ زنده ماندنی آگوتی^۱ برای اولین بار در اوایل دهه ۱۹۶۰ توصیف شد و از درج یک رتروترانسپوزون ذره A داخل سیستمی^۲ در بالادست محل شروع رونویسی ژن آگوتی حاصل شد. در موش های حامل A^{vy} ، یک پروموتور پنهان در انتهای پروگزیمال ذره A داخل سیستمی، باعث رونویسی نابه جا و دایمی آگوتی می شود که منجر به بیان آن نه تنها در فولیکول های مو، بلکه در همه سلول ها می شود. این امر منجر به خز زرد رنگ و همچنین تومورزایی، دیابت و چاقی آغاز بزرگسالی می شود (شکل ۷-۹). فعالیت A^{vy} تحت کنترل متیلاسیون DNA است. در مورد هایپرمتیلاسیون، آلل خاموش است و پوششی با رنگ وحشی و آگوتی ایجاد می کند (به نام آگوتی کاذب)، در حالی که هیپومتیلاسیون یک حالت فعال رونویسی را مشخص می کند که پوششی کاملاً زرد ایجاد می کند و تمایل به چاقی و سرطان را افزایش می دهد (مورگان و همکاران، ۱۹۹۹) (شکل ۷-۹).

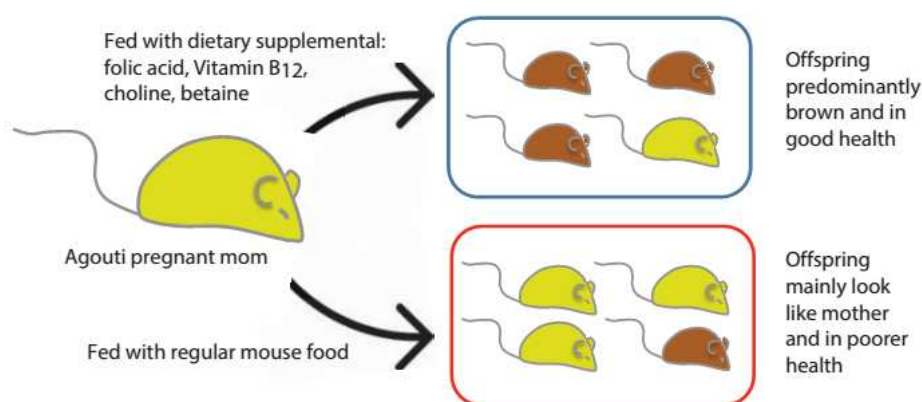
بنابراین، موش های آگوتی و شبه آگوتی از نظر ژنتیکی یکسان هستند، اما حالت اپی ژنتیک و فنوتیپ متفاوتی دارند. قابل توجه است که اگر موش A^{vy} باردار مکمل های غذایی مانند ویتامین B12، اسید فولیک، کولین و بتائین را دریافت کند که متابولیسم تک کربنی را تأمین می کند و منجر به افزایش تولید S-آدنوزیل متیونین می شود، ذره A داخل سیستمی در فرزندان متیله می شود و آگوتی بیان نوع وحشی را نشان می دهد (شکل ۸-۹). این توله ها دارای خز قهوه ای رنگ هستند و گرایشی به چاقی و سرطان ندارند؛ بنابراین، شرایط محیطی یا وضعیت تغذیه ای می تواند بیان ژن را تغییر دهد، به ویژه طی تکوین جنینی، زمانی که اپی ژنوم ایجاد می شود.

^۱. *Agouti. viable. yellow. (A^{vy})*

^۲. Intracisternal. A. particle. (IAP)



شکل ۷-۹: تنظیم رنگ زرد زنده ماندنی آگوتی از طریق متیلاسیون DNA. آلل A^{vy} از درج یک رتروترانسپوزون ذره A داخل سیستمی (IAP) در بالادست محل شروع رونویسی ژن آگوتی حاصل می شود. متیلاسیون DNA در ذره A داخل سیستمی بیان ناهای ژن آگوتی را سرکوب می کند و در نتیجه موش های سالم با پوشش قهوه ای رنگ ایجاد می شود.



شکل ۸-۹: تأثیر مکمل های غذایی مادر بر فنوتیپ و اپی ژنوتیپ فرزندان A^{vy} . مکمل مادری موش های A^{vy} با دهنده های متیل (فولات، بتائین، ویتامین B12 و کولین) منجر به زایمان توله هایی با نسبت بالاتری از فرزندان با پوشش قهوه ای رنگ می شود، در حالی که فرزندان مادرانی که با رژیم غذایی عادی تغذیه می شوند، پوست عمدتاً زرد رنگ دارند.

بیوسنتز متابولیت های محدود شده به کروماتین به عنوان فرایندی پدیدار شده است که بیان ژن های مجاور را با فراهم کردن متابولیت هایی برای آنزیم های اپی ژنتیک تعدیل می کند. این مورد گرایش ویژه برای واکنش های متیل ترانسفراز دارد که در آن برهم کنش های بین تولیدکنندگان S-آدنوزیل متیونین (آنزیم های متابولیک) و مصرف کنندگان S-آدنوزیل متیونین (آنزیم های اپی ژنتیک) منجر به تغییرات کروماتین کارآمد و افزایش ویژگی برای تغییرات صحیح با محدود کردن استفاده از S-آدنوزیل متیونین توسط آنزیم هایی با نتایج متضاد می شود (متیلاسیون H3K4 در مقابل

متیلاسیون H3K9). نمونه‌ای از این تنظیم، متیونین آدنوزیل ترانسفراز^۱ است، آنزیمی که تشکیل S-آدنوزیل متیونین از متیونین و ATP را در متابولیسم تک‌کربنی که یک مسیر میتوکندری/سیتوزولی است، کاتالیز می‌کند. در پستانداران، متیونین آدنوزیل ترانسفراز II، یکی از سه شکل متمایز متیونین آدنوزیل ترانسفراز، در هسته‌ها نیز موجود است و با عامل رونویسی MafK و متیل ترانسفراز H3K9 برهم‌کنش دارد. فعالیت کاتالیزوری متیونین آدنوزیل ترانسفراز II که برای تامین S-آدنوزیل متیونین برای متیل ترانسفرازها عمل می‌کند، برای متیلاسیون H3K9 و سرکوب رونویسی ژن هم اکسیژناز-۱ ضروری بود (کاتو و همکاران، ۲۰۱۱). وجود میکرودمین‌ها برای تغییرات کروماتین، جایی که بخش‌های S-آدنوزیل متیونین برای هیستون یا DNA متیل ترانسفرازهای بلافاصله پس از تغییر دوباره پر می‌شوند و همچنین برای سایر آنزیم‌های اپی ژنتیکی که از استیل‌کوا و NAD استفاده می‌کنند، توصیف شد (به بخش ۲-۹ و ۳-۹ مراجعه کنید). درک این که چگونه نوسانات موضعی میزان متابولیت‌ها، حالت‌های کروماتین را در فضا و زمان تنظیم می‌کنند، یک پرسش چالش برانگیز در حوزه تحقیقات اپی ژنتیک است.

۹-۵- فلاوین آدنین دی نوکلئوتید

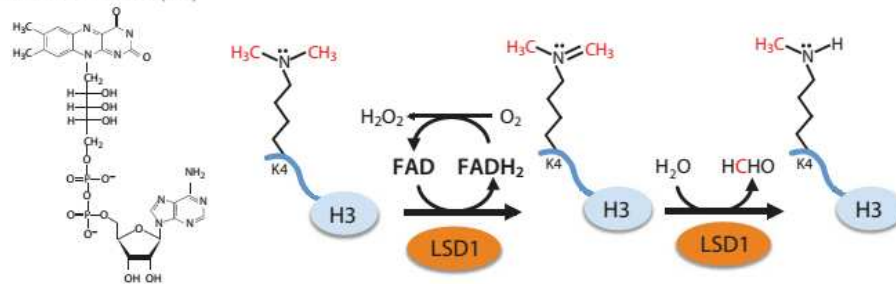
فلاوین آدنین دی نوکلئوتید کوفاکتور لیزین دمتیلاز ۱ (KDM1 یا لیزین دمتیلاز ۱) است (شکل ۹-۹).

۹-۵-۱- بیوسنتز FAD

FAD در میتوکندری و سیتوپلاسم از ریبوفلاوین (ویتامین B2) تولید می‌شود که در بسیاری از سبزیجات و گوشت یافت می‌شود. ریبوفلاوین توسط ریبوفلاوین کیناز و ATP فسفریله می‌شود تا ریبوفلاوین ۵-فسفات تولید کند که به عنوان فلاوین مونوکلوئتید شناخته می‌شود که بیشتر توسط FMN آدنیل ترانسفراز و ATP به FAD تبدیل می‌شود. آنزیم‌هایی که در سنتز FAD (سنتاز) و هیدرولیز FAD (پیروفسفاتاز) نقش دارند در هسته نیز یافت می‌شوند که با متعادل کردن نسبت بین فرم‌های اکسید شده (FAD^+) و احیاء شده ($FADH_2$) یک مخزن پویا از FAD هسته‌ای را فراهم می‌کنند. احیا FAD به $FADH_2$ یک واکنش ضروری در چرخه کربس است، جایی که سوکسینات دهیدروژناز باید به طور کووالانسی به FAD متصل شود تا اکسیداسیون سوکسینات به فومارات را کاتالیز کند. در نهایت، $FADH_2$ می‌تواند توسط اکسیژن با تولید FAD و پراکسید دوباره اکسید شود.

¹. Methionine adenosyltransferase (MAT)

Flavin adenine dinucleotide (FAD)



شکل ۹-۹: فلاوین آدنین دی نوکلئوتید (FAD) کوفاکتور لیزین دمتیلاز ۱ است. ساختار FAD و دخالت آن در دمتیلاسیون هیستون با واسطه لیزین دمتیلاز ۱ نشان داده شده است. واکنشی که با واسطه لیزین دمتیلاز ۱ انجام می شود، نیازمند پروتونه شدن نیتروژن برای دمتیلاسیون است که توانایی دمتیلاسیون توسط لیزین دمتیلاز ۱ را به لیزین های تک و دی متیله شده محدود می کند. دمتیلاسیون با واسطه لیزین دمتیلاز ۱ باعث تولید فرمالدئید و $FADH_2$ می شود. بازیافت FAD از طریق اکسیداسیون $FADH_2$ انجام می شود که پراکسید تولید می کند.

FAD به عنوان کوفاکتور فلاوانزیم ها عمل می کند که دارای فعالیت های دهیدروناز، اکسیداز، مونواکسیژناز یا ردوکتاز هستند. فلاوانزیم ها نقش های مهمی در بیوانرژژیک، فتوشیمی، بیولومینسانس، هموستازی ردوکس، بازسازی کروماتین، ترمیم DNA، تاخوردگی پروتئین، آپوپتوز و سایر فرایندهای فیزیولوژیکی مرتبط ایفا می کنند (جاستن و ون برکل، ۲۰۰۷). کمبود آنزیم های وابسته به FAD و/یا اختلال در هموستازی فلاوین در انسان و مدل های حیوانی با چندین بیماری از جمله سرطان و اختلالات عصبی مرتبط است.

۹-۵-۲ FAD به عنوان کوفاکتور لیزین دمتیلاز ۱

بیشتر فلاوانزیم های گزارش شده در میتوکندری یا سیتوپلاسم قرار دارند. لیزین دمتیلاز ۱ یکی از معدود فلاوپروتئین های موجود در هسته است و تنها آنزیم اپی ژنتیکی است که از FAD به عنوان یک کوفاکتور ضروری برای فعالیت کاتالیزوری استفاده می کند. لیزین دمتیلاز ۱ عضوی از خانواده آمین اکسیداز حاوی فلاوین است و رونویسی را با حذف گروه متیل از H3K4 تک متیله و دی متیله سرکوب می کند (شی و همکاران، ۲۰۰۴) (شکل ۹-۹). لیزین دمتیلاز ۱ در ارتباط با یک گیرنده هسته ای نیز در دمتیلاسیون H3K9 نقش دارد. علاوه بر این، دمتیلاسیون توسط لیزین دمتیلاز ۱ نیز برای پروتئین های غیرهیستون مانند p53 گزارش شد. مونوآمین اکسیدازهای وابسته به FAD معمولاً اکسیداسیون سوبستراهای حاوی آمین را کاتالیز می کنند و از اکسیژن مولکولی به عنوان گیرنده الکترون استفاده می کنند. واکنشی که با واسطه لیزین دمتیلاز ۱ انجام می شود، نیازمند پروتونه شدن نیتروژن برای دمتیلاسیون است که توانایی دمتیلاسیون لیزین دمتیلاز ۱ را به لیزین های تک و دی

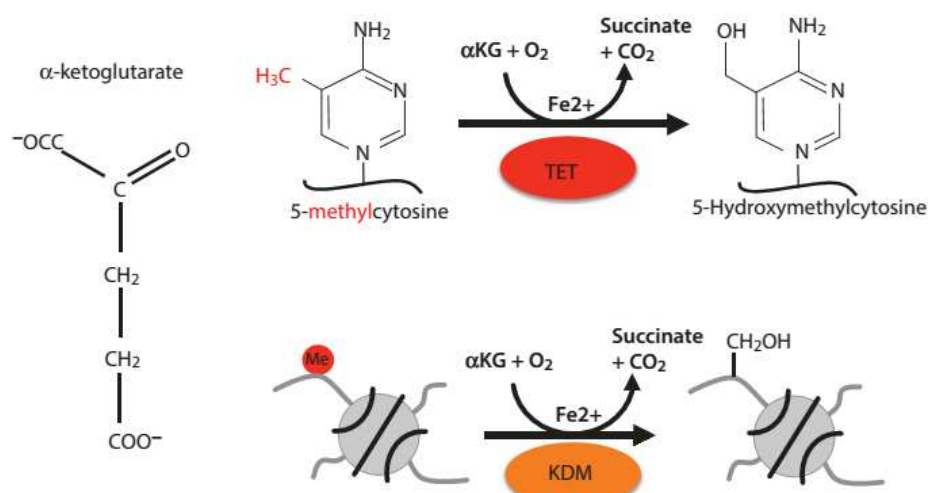
متیله محدود می‌کند. نکته قابل توجه این است که دمتیلاسیون با واسطه لیزین دمتیلازا، فرمالدئید و $FADH_2$ تولید می‌کند. علاوه بر این، بازیافت FAD از طریق اکسیداسیون $FADH_2$ که پراکسید تولید می‌کند، اتفاق می‌افتد. تولید فرمالدئید و پراکسید هنگامی که نزدیک پروموتورها وجود دارد ممکن است اثرات مضر داشته باشد. با این حال، نحوه عملکرد سلول‌ها با این محصولات هنوز مورد بررسی قرار نگرفته است.

عملکرد مهم لیزین دمتیلازا با کشندگی جنینی در موش‌های Kdm1KO فاقد موتاسیون و سلول‌های بنیادی جنینی با لیزین دمتیلازا معیوب که هیپومتیلاسیون DNA فراگیر را نشان می‌دهند، مشهود است (وانگ و همکاران، ۲۰۰۹). اهمیت زیستی فعالیت‌های لیزین دمتیلازا وابسته به FAD در تنظیم متابولیک اخیراً توسط مطالعاتی که کراس تاک بین متابولیسم انرژی و تنظیم ژن اپی ژنتیک را نشان می‌دهد، حمایت شده است. به عنوان مثال، لیزین دمتیلازا ژن‌های مصرف‌کننده انرژی مانند $PGC1\alpha$ را از طریق دمتیلاسیون H3K4 در سلول‌های چربی که در آن انرژی اضافی به عنوان تری گلیسیرید ذخیره می‌شود، سرکوب می‌کند. محتوای FAD سلولی به طور قابل توجهی در طول تمایز چربی افزایش یافت، در حالی که کاهش میزان FAD با فروتنظیم ریپوفلاوین کیناز باعث بیان بیشتر ژن‌های هدف لیزین دمتیلازا شد. علاوه بر این، بیان بیش از حد تراریخته لیزین دمتیلازا در بافت چربی با افزایش فعالیت میتوکندریایی منجر به افزایش قهوه‌ای شدن^۱ می‌شود، بنابراین در برابر چاقی ناشی از رژیم غذایی محافظت می‌کند. در نهایت، مهارکننده‌های لیزین دمتیلازا منجر به تغییر متابولیسم از اکسیداتیو به متابولیسم گلیکولیتیک در بافت چربی قهوه‌ای می‌شود که منجر به افزایش وزن اما بهبود تحمل گلوکز می‌شود (دوتیل و همکاران، ۲۰۱۶). از مهارکننده‌های لیزین دمتیلازا در کارآزمایی‌های بالینی برای درمان سرطان خون دودمان ترکیبی استفاده شده است.

۹-۶-۱- کتوگلو تارات- α

α -کتوگلو تارات یک واسطه چرخه کربس است و یک همراه سوپسترای ضروری برای هیستون لیزین دمتیلازهای دارای دمین جومونجی (KDMs) و آنزیم‌های جابه‌جایی ۱۱-۱۰ است که در یک فرایند چند مرحله ای دمتیلاسیون DNA مشارکت می‌کنند (شکل ۹-۱۰).

^۱. بافت چربی قهوه‌ای وظیفه اتلاف انرژی برای تولید گرما و پتانسیل تنظیم دمای بدن با گرمایی را دارد.



شکل ۹-۱۰: α -کتوگلوئارات یک همراه سوسترای دی اکسیژنازاها است. α -کتوگلوئارات یک همراه سوسترای مورد نیاز برای هیستون دمتیلازهای خانواده C جومونجی (KDMs) و آنزیمهای جابه جایی ۱۱-۱۰ است که در فرایند چند مرحله ای دمتیلاسیون DNA شرکت می کنند. جابه جایی های ۱۱-۱۰ و KDM ها به Fe(II) به عنوان کوفاکتور فلزی و α -KG همراه سوسترای برای کاتالیز واکنش هایی نیاز دارند که در آن یک اتم اکسیژن از اکسیژن مولکولی به یک گروه هیدروکسیل در سوسترای (هیدروکسیلاسیون) متصل می شود درحالی که اتم دیگر اکسیژن توسط α -کتوگلوئارات جذب می شود که این امر منجر به دیکربوکسیلاسیون α -کتوگلوئارات و رها سازی دی اکسید کربن و سوکسینات می شود.

۹-۶-۱- بیوسنتز α -کتوگلوئارات

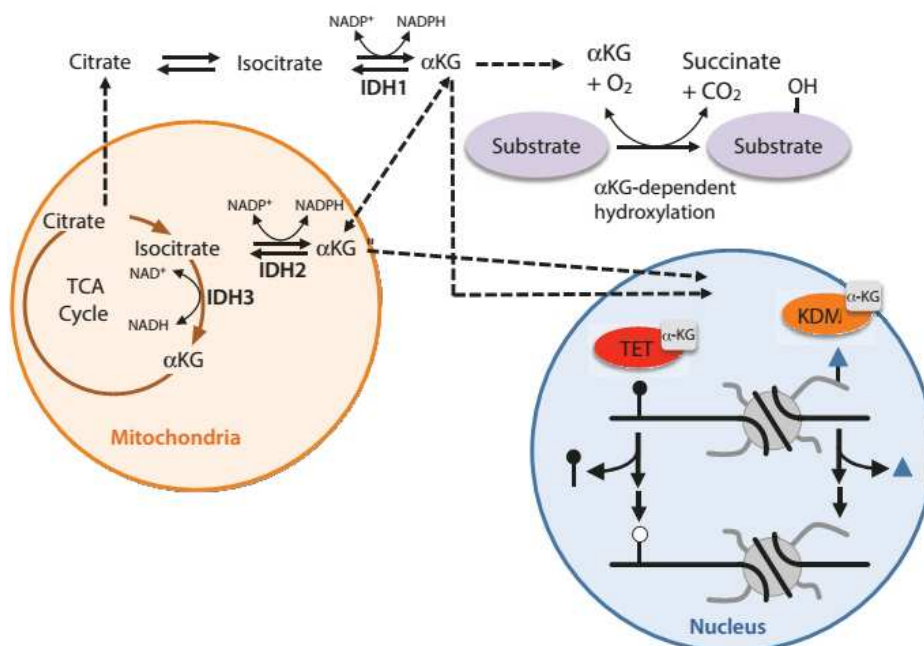
ایزوسیترات دهیدروژنازها^۱ (ایزوسیترات دهیدروژناز نوع ۱، ایزوسیترات دهیدروژناز نوع ۲، ایزوسیترات دهیدروژناز نوع ۳) و گلوتمات دهیدروژناز آنزیمهایی هستند که α -کتوگلوئارات را تولید می کنند (شکل ۹-۱۱).

ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۱ و ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۲ آنزیمهای وابسته به نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NAD^+) هستند درحالی که ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۳ آنزیم وابسته به NAD است. ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۱ در سیتوپلاسم و پراکسی زومها قرار دارند. ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۲ و ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۳ در میتوکندری قرار دارند و نقش کلیدی در تنظیم چرخه کربس دارند. ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۱ و ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۲ آنزیمهای دوطرفه ای هستند که می توانند α -کتوگلوئارات را برای برآوردن نیازهای سلولی تولید و مصرف کنند. α -کتوگلوئارات برای چهار مسیر جداگانه استفاده

¹. Isocitrate dehydrogenases (IDHs)

می‌شود: چرخه کربس، آناپلروزیس^۱، سنتز اسیدهای چرب و هیدروکسیلاسیون پروتئین و اسید نوکلئیک. α -کتوگلوئارات یک حدواسط تعیین‌کننده سرعت در چرخه کربس است و نقش مهمی در متابولیسم انرژی سلولی دارد. در چرخه کربس، α -کتوگلوئارات توسط کمپلکس اکسوگلوئارات دهیدروژناز، یک نقطه کنترل کلیدی از چرخه کربس، به سوکسینیل کوآ و CO_2 ، دکرپوکسیله می‌شود. α -کتوگلوئارات همچنین نقش مهمی در آناپلروز چرخه کربس ایفا می‌کند، مسیری که حدواسطهای کربس را از طریق سایر مسیرهای بیوسنتزی پر می‌کند. در این مورد، α -کتوگلوئارات به‌عنوان نقطه ورودی چرخه کربس برای تولید چند اسیدآمین^۵ کربنی (آرژنین، گلوتامات، گلوتامین، هیستیدین و پرولین) عمل می‌کند که پس از تبدیل شدن به گلوتامات، گلوتامات توسط گلوتامات دهیدروژناز تحت دآمیناسیون اکسیداتیو قرار می‌گیرد و α -کتوگلوئارات و NH_3 تشکیل می‌شود. α -کتوگلوئارات همچنین می‌تواند توسط ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۱ و ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۲ به ایزوسیترات و سپس سیترات احیا شود. همان‌طور که در زیر بحث شد، α -کتوگلوئارات به‌عنوان یک همراه سوبسترا برای چندین دی‌اکسیژناز وابسته به α -کتوگلوئارات استفاده می‌شود که در هیدروکسیلاسیون پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک مختلف نقش دارند.

^۱ آناپلروز به مسیرهای متابولیکی اشاره دارد؛ که حد واسطهای چرخه کربس را دوباره پر می‌کنند.



شکل ۹-۱۱: بیوسنتز α -کتوگلوئارات. ایزوسیترات دهیدروژنازهای (ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۱، ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۲ و ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۳) گلوئامات دهیدروژناز (GDH) آنزیمهایی هستند که α -کتوگلوئارات را از ایزوسیترات تولید می کنند. ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۱ در سیتوپلاسم قرار دارد، در حالی که ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۲ و ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۳ در میتوکندری مستقر هستند. ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۱ و ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۲ آنزیمهای وابسته به $NADP^+$ هستند در حالی که ایزوسیترات دهیدروژنازهای نوع ۳ یک آنزیم وابسته به NAD است.

۹-۲-۶-۹- α -کتوگلوئارات به عنوان کوفاکتور DNA دمتیلازهای خانواده-جابه جایی ۱۰-۱۱ و

هیستون دمتیلازهای خانواده Jumonji C

α -کتوگلوئارات توسط چندین دی اکسیژناز استفاده می شود که واکنش های هیدروکسیلاسیون را روی سوبستراهای مختلف از جمله پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک کاتالیز می کنند. DNA دمتیلازهای خانواده جابه جایی ۱۰-۱۱ و هیستون دمتیلازهای خانواده جومونجی C (JmJc) دی اکسیژنازهای وابسته به $Fe(II)/\alpha KG$ هستند که به ترتیب حذف گروه های متیل را از بازهای سیتوزینی و رزیدیوهای هیستون تسهیل می کنند (شکل ۹-۱۰). پروتئین های جابه جایی ۱۰-۱۱ اکسیداسیون ۵-متیل سیتوزین به ۵-هیدروکسی متیل سیتوزین، ۵-فرمیل سیتوزین و ۵-کربوکسیل سیتوزین را میانجی گری می کند، واکنشی که در DNA دمتیلاسیون نقش دارد (به

فصل اول کتاب مراجعه کنید). دمتیلازهای JmJC گروهی از هیستون لیزین دمتیلازها^۱ (KDMs) هستند. چندین زیرخانواده مختلف از JmJC KDM وجود دارند که شناسایی شده‌اند، از جمله هیستون لیزین دمتیلاز ۲، هیستون لیزین دمتیلاز ۳، هیستون لیزین دمتیلاز ۴، هیستون لیزین دمتیلاز ۵ و هیستون لیزین دمتیلاز ۶. جابه‌جایی‌های ۱۱-۱۰ و JmJC KDM ها به Fe(II) به‌عنوان یک کوفاکتور فلزی و α -کتوگلوئارات به‌عنوان یک همراه سوپسترا برای کاتالیز واکنش‌هایی نیاز دارند که در آن یک اتم اکسیژن از اکسیژن مولکولی برای تشکیل یک گروه هیدروکسیل در سوپسترا (هیدروکسیلاسیون) متصل می‌شود، در حالی که اتم دیگر اکسیژن توسط α -کتوگلوئارات جذب می‌شود که منجر به دکرپوکسیلاسیون α -کتوگلوئارات و رهاسازی دی‌اکسیدکربن و سوکسینات می‌شود (هاوسینگر، ۲۰۰۴). فعالیت جابه‌جایی‌های ۱۱-۱۰ و JmJCs به‌طور رقابتی توسط حدواسطه‌های چرخه کربس مانند سوکسینات و فومارات مهار می‌شوند.

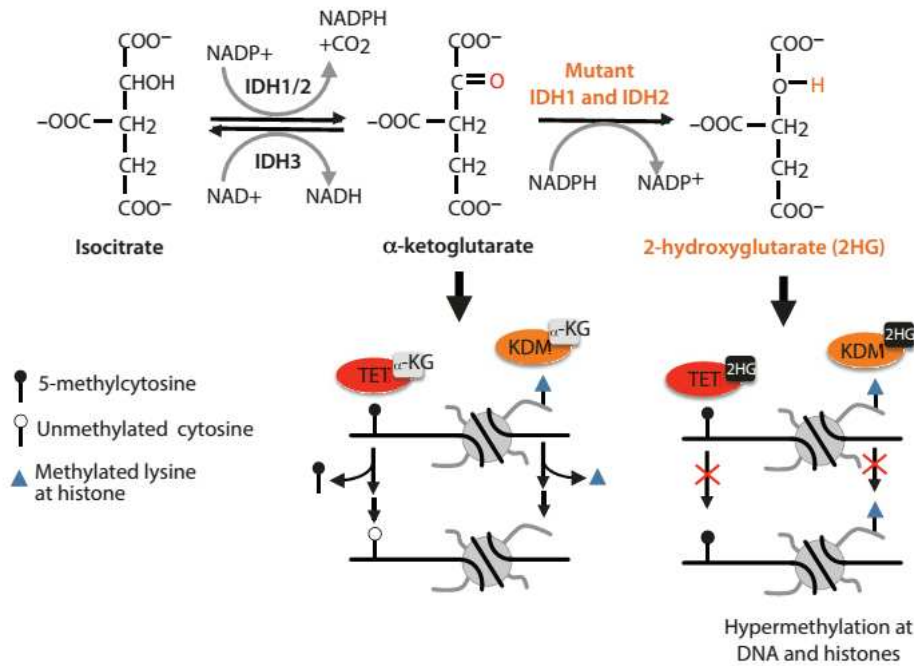
سلول‌های بنیادی جنینی بکر از هر دو کاتابولیسم گلوکز و گلوتامین برای حفظ میزان بالای α -کتوگلوئارات استفاده می‌کنند. افزایش نسبت α -کتوگلوئارات به سوکسینات در سلول‌های بنیادی جنینی بکر، دمتیلاسون DNA و هیستون را ارتقا می‌دهد و حالت پرتوانی را حفظ می‌کند. تغییر مستقیم نسبت سوکسینات α -کتوگلوئارات درون سلولی برای تنظیم چندین تغییر کروماتین، از جمله H3K27me3 و دمتیلاسیون DNA وابسته به جابه‌جایی ۱۱-۱۰ که در تنظیم بیان ژن مرتبط با پرتوانی مشارکت می‌کند، کافی است.

مطالعات اولیه توالی‌یابی ژنوم در بیماران مبتلا به گلیوبلاستوما، موتاسیون‌های سوماتیک در ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۱ را شناسایی کردند. تومورهای بدون موتاسیون ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۱ اغلب دارای موتاسیون‌هایی هستند که ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۲ را تحت‌تأثیر قرار می‌دهند (شکل ۹-۱۲) (پارسون و همکاران، ۲۰۰۸؛ یان و همکاران، ۲۰۰۹). بعدها، موتاسیون مشابهی در لوسمی میلوژن حاد و کندروسارکوم نیز یافت شد. موتاسیون در ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۱ و ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۲ تقریباً همیشه در محل اتصال ایزوسیترات است (Arg 132 برای ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۱، Arg ۱۷۲ برای ایزوسیترات‌دهیدروژنازهای نوع ۲). با این حال، جهش‌یافته ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۱ و ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۲ واقعا آنزیم‌های غیر فعال نیستند، بلکه در عوض، دارای یک فعالیت آنزیمی جدید هستند که منجر به تولید ۲-هیدروکسی گلوئارات می‌شود (دانگ و همکاران، ۲۰۰۹). براین‌اساس، گلیوماهای بدخیم انسانی و لوسمی میلوئید حاد‌های حاوی موتاسیون ایزوسیترات‌دهیدروژنازهای نوع ۱ دارای میزان بالایی از ۲-هیدروکسی گلوئارات هستند.

¹. Histone lysine demethylases (KDMs)

شواهد نشان می‌دهد که ۲-هیدروکسی گلو تارات ممکن است با مهار رقابتی آنزیم‌های وابسته به α -کتوگلو تارات، از جمله JmjC KDMs و جابه‌جایی‌های ۱۱-۱۰، به عنوان یک انکومتابولیت عمل کند (شکل ۹-۱۲). ساختار ۲-هیدروکسی گلو تارات و α -کتوگلو تارات مشابه است به استثنای اینکه گروه ۲ کتون در α -کتوگلو تارات که با یک گروه هیدروکسیل در ۲-هیدروکسی گلو تارات جایگزین شده است. بررسی ساختاری نشان داد که ۲-هیدروکسی گلو تارات همان فضایی را اشغال می‌کند که α -کتوگلو تارات در محل فعال هیستون دمتیلازها اشغال می‌کند و جهت‌گیری تقریباً یکسانی همانند α -کتوگلو تارات دارد، در نتیجه از اتصال α -کتوگلو تارات به محل فعال آنزیم‌ها جلوگیری می‌کند.

مطالعات آزمایشگاهی نشان داد که ۲-هیدروکسی گلو تارات به شدت هیستون دمتیلازها را مهار می‌کند. قوی‌ترین مهار با KDM4A مشاهده شد که H3K9 و H3K36 را دمتیله می‌کند، به دنبال آن H3K9/H3K36 دمتیلاز KDM4C و H3K36 دمتیلاز KDM2A عمل دمتیله‌شدن را انجام می‌دهند. این یافته‌ها توسط مطالعات *in vivo* پشتیبانی شد و نشان داد که تومورهای انسانی بیان کننده جهش‌یافته‌های ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۱ و ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۲، متیلاسیون هیستون را در H3K4، H3K9، H3K27 و H3K79 افزایش داده‌اند (لو و همکاران، ۲۰۱۲).



شکل ۹-۱۲: واکنش‌های شیمیایی کاتالیز شده توسط آنزیم‌های ایزوسیتрат‌دهیدروژناز و جهش‌یافته‌های ایزوسیترات‌دهیدروژناز ۷۲. جهش‌یافته‌های ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۱ و ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۲ دارای فعالیت آنزیمی جدید هستند که منجر به تولید ۲-هیدروکسی‌گلوتارات (2HG) می‌شود. ۲-هیدروکسی‌گلوتارات به‌عنوان بازدارنده رقابتی آنزیم‌های وابسته به α -کتوگلوتارات، از جمله KDMs و جابه‌جایی‌های ۱۰-۱۱ عمل می‌کند و در نتیجه باعث هیپرمتیلاسیون در DNA و هیستون‌ها می‌شود.

دومین هدف اصلی موتاسیون‌های ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۱ و ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۲ خانواده جابه‌جایی ۱۰-۱۱ است. ۲-هیدروکسی‌گلوتارات فعالیت جابه‌جایی ۱۰-۱۱ را مهار می‌کند و این مهار می‌تواند با افزودن α -کتوگلوتارات خنثی شود (شو و همکاران، ۲۰۱۱). علاوه بر این، گلیوبلاستوماهایی که ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۱ جهش‌یافته را بیان می‌کنند، هیپرمتیلاسیون را در تعداد زیادی از مکان‌ها نشان می‌دهند که منجر به اتفاقی می‌شود که به‌عنوان فنوتیپ متیلاتور جزیره گلیوما CpG- شناخته می‌شود. به‌طور قابل توجهی، موتاسیون‌های مؤثر بر جابه‌جایی ۱۰-۱۱ نوع ۲ و ایزوسیترات‌دهیدروژناز نوع ۱ در لوسمی میلوئید حاد (به فصل هشتم مراجعه کنید) به شیوه‌ای انحصاری متقابل رخ می‌دهند که نشان می‌دهد اثر زیستی آن‌ها مشابه است و نقش‌های همپوشانی در پاتوژنز لوسمی میلوئید حاد دارند.

پیام کلیدی این فصل که باید به خاطر سپرد.

- بیشتر آنزیم‌های تغییردهنده کروماتین از متابولیت‌هایی استفاده می‌کنند که در متابولیسم سلولی به‌عنوان کوفاکتور نقش دارند.
- اپی‌ژنوم به‌عنوان حسگر کل شبکه متابولیک عمل می‌کند و بیان ژن را بر این اساس تنظیم می‌کند.
- محرک‌های محیطی و فیزیولوژیکی می‌توانند غلظت متابولیت‌ها را تغییر دهند که به‌نوبه خود ممکن است با تعدیل فعالیت آنزیم‌های اپی‌ژنتیک و کروماتین بر بیان ژن تأثیر بگذارند.
- بیوسنتز متابولیت‌های محدود شده به کروماتین به‌عنوان فرایندی پدیدار شده است که بیان ژن‌های مجاور را با فراهم کردن متابولیت‌هایی تعدیل می‌کند که به‌عنوان کوفاکتور، آنزیم‌های اپی‌ژنتیک را فعال می‌کنند.
- درمان‌های غذایی خاص مادر یا عوامل محیطی بر فنوتیپ فرزندان از طریق مکانیسم اپی‌ژنتیکی اثر می‌گذارد (به موش آگوتی مراجعه کنید).
- مسیرهای اپی‌ژنتیک و کروماتین می‌تواند توسط انکومتابولیت‌ها تغییر داده‌شود؛ دسته‌ای از متابولیت‌ها که مقدار آن‌ها در تومورها در مقایسه با سلول‌های طبیعی افزایش پیدا می‌کند.
- ۲- هیدروکسی گلو تارات که نتیجه موتاسیون ژن ایزوسیترات دهیدروژناز نوع ۱ یا ایزوسیترات دهیدروژناز نوع ۲ در گلیوما و لوسمی میلوئید حاد است، عملکرد دی‌اکسیژنازهایی نیازمند α -کتوگلو تارات (به‌عنوان مثال جابه‌جایی‌های ۱۱-۱۰ و KDMs) را که در دمتیلاسیون DNA و هیستون نقش دارند، مختل می‌کند.
- ورزش و محدودیت کالری باعث افزایش میزان NAD و در نتیجه فعال شدن سیرتوئین‌هایی می‌شود که در تنظیم پیری و طول عمر نقش دارند.

منابع

- Allen HF, Wade PA, Kutateladze TG (2013) The NuRD architecture. *Cell Mol Life Sci* 70(19):3513- 3524. <https://doi.org/10.1007/s00018-012-1256-2>
- Bell AC, Felsenfeld G (2000) Methylation of a CTCF-dependent boundary controls imprinted expression of the *Igf2* gene. *Nature* 405(6785):482-485. <https://doi.org/10.1038/35013100>
- Bersaglieri C, Santoro R (2019) Genome organization in and around the nucleolus. *Cell* 8(6):579. <https://doi.org/10.3390/cells8060579>
- Bitler BG, Aird KM, Garipov A, Li H, Amatangelo M, Kossenkova AV, Schultz DC, Liu Q, Shih le M, Conejo-Garcia JR, Speicher DW, Zhang R (2015) Synthetic lethality by targeting EZH2 methyltransferase activity in ARID1A-mutated cancers. *Nat Med* 21(3):231–238. <https://doi.org/10.1038/nm.3799>
- Brunetti L, Gundry MC, Goodell MA (2017) DNMT3A in leukemia. *Cold Spring Harb Perspect Med* 7(42). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a030320>
- Cancer Genome Atlas Research N, Ley TJ, Miller C, Ding L, Raphael BJ, Mungall AJ, Robertson A, Hoadley K, Triche TJ Jr, Laird PW, Baty JD, Fulton LL, Fulton R, Heath SE, Kalicki-Veizer J, Kandoth C, Kico JM, Koboldt DC, Kanchi KL, Kulkarni S, Lamprecht TL, Larson DE, Lin L, Lu C, McLellan MD, McMichael JF, Payton J, Schmidt H, Spencer DH, Tomasson MH, Wallis JW, Wartman LD, Watson MA, Welch J, Wendl MC, Ally A, Balasundaram M, Birol I, Butterfield Y, Chiu R, Chu A, Chuah E, Chun HJ, Corbett R, Dhalla N, Guin R, He A, Hirst C, Hirst M, Holt RA, Jones S, Karsan A, Lee D, Li HI, Marra MA, Mayo M, Moore RA, Mungall K, Parker J, Pleasance E, Plettner P, Schein J, Stoll D, Swanson L, Tam A, Thiessen N, Varhol R, Wye N, Zhao Y, Gabriel S, Getz G, Sougnez C, Zou L, Leiserson MD, Vandin F, Wu HT, Applebaum F, Baylin SB, Akbani R, Broom BM, Chen K, Motter TC, Nguyen K, Weinstein JN, Zhang N, Ferguson ML, Adams C, Black A, Bowen J, Gastier-Foster J, Grossman T, Lichtenberg T, Wise L, Davidsen T, Demchok JA, Shaw KR, Sheth M, Sofia HJ, Yang L, Downing JR, Eley G (2013) Genomic and epigenomic landscapes of adult de novo acute myeloid leukemia. *N Engl J Med* 368(22):2059-2074. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1301689>
- Di Cerbo V, Schneider R (2013) Cancers with wrong HATS: the impact of acetylation. *Brief Funct Genomics* 12(3):231-243. <https://doi.org/10.1093/bfgp/cls065>
- Feinberg AP, Vogelstein B (1983) Hypomethylation distinguishes genes of some human cancers from their normal counterparts. *Nature* 301(5895):89-92
- Fenaux P, Mufti GJ, Hellstrom-Lindberg E, Santini V, Finelli C, Giagounidis A, Schoch R, Gattermann N, Sanz G, List A, Gore SD, Seymour JF, Bennett JM, Byrd J, Backstrom J, Zimmerman L, McKenzie D, Beach C, Silverman LR, International Vidaza High-Risk MDSSSG (2009) Efficacy of azacitidine compared with that of conventional care regimens in the treatment of higher-risk myelodysplastic syndromes: a randomised, open-label, phase III study. *Lancet Oncol* 10(3):223- 232. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(09\)70003-8](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(09)70003-8)
- Filippakopoulos P, Qi J, Picaud S, Shen Y, Smith WB, Fedorov O, Morse EM, Keates T, Hickman TT, Felletar I, Philpott M, Munro S, McKeown MR, Wang Y, Christie AL, West N, Cameron MJ, Schwartz B, Heightman TD, La Thangue N, French CA, Wiest O, Kung AL, Knapp S, Bradner JE Created using Matnayaar -

- <https://matnyaar.ir> (2010) Selective inhibition of BET bromodomains. *Nature* 468(7327):1067-1073. <https://doi.org/10.1038/nature09504>
- Fraga MF, Herranz M, Espada J, Ballestar E, Paz MF, Ropero S, Erkek E, Bozdogan O, Peinado H, Niveleau A, Mao JH, Balmain A, Cano A, Esteller M (2004) A mouse skin multistage carcinogenesis model reflects the aberrant DNA methylation patterns of human tumors. *Cancer Res* 64(16):5527-5534. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-03-4061>
- Hoffmann A, Spengler D (2019) Chromatin remodeling complex NuRD in neurodevelopment and neurodevelopmental disorders. *Front Genet* 10:682. <https://doi.org/10.3389/fgene.2019.00682>
- Lasko LM, Jakob CG, Edalji RP, Quu W, Montgomery D, Digiammarino EL, Hansen TM, Risi RM, Frey R, Manaves V, Shaw B, Algire M, Hessler P, Lam LT, Uziel T, Faivre E, Ferguson D, Buchanan FG, Martin RL, Torrent M, Chiang GG, Karukurichi K, Langston JW, Weinert BT, Choudhary C, de Vries P, Van Drie JH, McElligott D, Kesicki E, Marmorstein R, Sun C, Cole PA, Rosenberg SH, Michaelides MR, Lai A, Bromberg KD (2017) Discovery of a selective catalytic p300/CBP inhibitor that targets lineage-specific tumours. *Nature* 550(7674):128-132. <https://doi.org/10.1038/nature24028>
- Laugesen A, Hojfeldt JW, Helin K (2016) Role of the Polycomb repressive complex 2 (PRC2) in transcriptional regulation and Cancer. *Cold Spring Harb Perspect Med* 6(9). <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a026575>
- Lewis PW, Muller MM, Koletsky MS, Cordero F, Lin S, Banaszynski LA, Garcia BA, Muir TW, Becher OJ, Allis CD (2013) Inhibition of PRC2 activity by a gain-of-function H3 mutation found in pediatric glioblastoma. *Science* 340(6134):857-861. <https://doi.org/10.1126/science.1232245>
- Marques JG, Gryder BE, Pavlovic B, Chung Y, Ngo QA, Frommelt F, Gstaiger M, Song Y, Benischke K, Laubscher D, Wachtel M, Khan J, Schafer BW (2020) NuRD subunit CHD4 regulates super-enhancer accessibility in rhabdomyosarcoma and represents a general tumor dependency. *Elife* 9. <https://doi.org/10.7554/eLife.54993>
- Nakayama RT, Pulice JL, Valencia AM, McBride MJ, McKenzie ZM, Gillespie MA, Ku WL, Teng M, Cui K, Williams RT, Cassel SH, Qing H, Widmer CJ, Demetri GD, Irizarry RA, Zhao K, Ranish JA, Kadoch C (2017) SMARCB1 is required for widespread BAF complex-mediated activation of enhancers and bivalent promoters. *Nat Genet* 49(11):1613-1623. <https://doi.org/10.1038/ng.3958>
- Perez-Salvia M, Esteller M (2017). Bromodomain inhibitors and cancer therapy: from structures to applications. *Epigenetics* 12(5):323-339. <https://doi.org/10.1080/15592294.2016.1265710>
- Pietrzak K, Kuzyakrv R, Simon R, Bolis M, Bar D, Aprigliano R, Theurillat JP, Sauter G, Santoro R (2020) TIPS primes prostate luminal cells for the oncogenic transformation mediated by PTEN-loss, *Proc Natl Acad Sci USA* 117(7):3637-3647. <https://doi.org/10.1073/pnas.1911673117>
- Prager BC, Xie Q, Bao S, Rich JN (2019) Cancer stem cells: the architects of the tumor ecosystem. *Cell Stem Cell* 24(1):41-53. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2018.12.009>

- Qi J (2014) Bromodomain and extraterminal domain inhibitors (BET) for cancer therapy: chemical modulation of chromatin structure. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 6(12):a018663. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a018663>.
- Remillard D, Buckley DL, Paulk J, Brien GL, Sonnett M, Seo HS, Dastjerdi S, Wuhr M, Dhe-Paganon S, Armstrong SA, Bradner JE (2017) Degradation of the BAF complex factor BRD9 by heterobi-functional ligands. *Angew Chem* 56(21):5738-5743. <https://doi.org/10.1002/anie.201611281>.
- Ropero S, Esteller M (2007) The role of histone deacetylases (HDACs) in human cancer. *Mol Oncol* 1(1):19-25. <https://doi.org/10.1016/j.molonc.2007.01.001>.
- Schwartzentruber J, Korshunov A, Liu XY, Jones DT, Pfaff E, Jacob K, Sturm D, Fontebasso AM, Quang DA, Tonjes M, Hovestadt V, Albrecht S, Kool M, Nantel A, Konermann C, Lindroth A, Jager N, Rausch T, Ryzhova M, Korbel JO, Hielscher T, Hauser P, Garami M, Kickner A, Bogner L, Ebinger M, Schuhmann MU, Scheurlen W, Pekrun A, Fruhwald MC, Roggendorf W, Kramm C, Durken M, Atkinson J, Lepage P, Montpetit A, Zakrzewska M, Zakrzewski K, Liberski PP, Dong Z, Siegel P, Kulozik AE, Zapatka M, Guha A, Malkin D, Felsberg J, Reifemberger G, von Deimling A, Ichimura K, Collins VP, Witt H, Milde T, Witt O, Zhang C, Castelo-Branco P, Lichter P, Faury D, Tabori U, Plass C, Majewski J, Pfister SM, Jabado N (2012) Driver mutations in histone H3.3 and chromatin remodelling genes in paediatric glioblastoma. *Nature* 482(7384):226-231. <https://doi.org/10.1038/nature10833>.
- Soejima H, Higashimoto K (2013) Epigenetic and genetic alterations of the imprinting disorder Beckwith-Wiedemann syndrome and related disorders. *J Hum Genet* 58(7):402-409. <https://doi.org/10.1038/jhg.2013.51> Created using Matnyaar - <https://matnyaar.ir>.
- Valencia AM, Kadoch C (2019) Chromatin regulatory mechanisms and therapeutic opportunities in cancer. *Nat Cell Biol* 21(2):152-161. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0258-1>.
- Wang L, Du Y, Ward JM, Shimbo T, Lackford B, Zheng X, Miao YL, Zhou B, Han L, Fargo DC, Jothi R, Williams CJ, Wade PA, Hu G (2014) INO80 facilitates pluripotency gene activation in embryonic stem cell self-renewal, reprogramming, and blastocyst development. *Cell Stem Cell* 14(5):575-591. <https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.02.013>.
- Watanabe S, Peterson CL (2010) The INO80 family of chromatin-remodeling enzymes: regulators of histone variant dynamics. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol* 75:35-42. <https://doi.org/10.1101/sqh.2010.75.063>.
- Wu G, Broniseer A, McEachron TA, Lu C, Paugh BS, Becksfort J, Qu C, Ding L, Huether R, Parker M, Zhang J, Gajjar A, Dyer MA, Mullighan CG, Gilbertson RJ, Mardis ER, Wilson RK, Downing JR, Ellison DW, Baker SJ (2012) Somatic histone H3 alterations in pediatric diffuse intrinsic pontine gliomas and non-brainstem glioblastomas. *Nat Genet* 44(3):251-253. <https://doi.org/10.1038/ng.1102>.
- Xu K, Wu ZI, Groner AC, He HH, Cai C, Lis RT, Wu X, Stack EC, Loda M, Liu T, Xu H, Cato L, Thornton JE, Gregory RI, Morrissey C, Vessella RL, Montironi R, Magi-Galluzzi C, Kantoff PW, Balk SP, Liu XS, Brown M (2012) EZH2 oncogenic activity in castration-resistant prostate cancer cells is Polycomb-

- independent. *Science* 338(6113):1465-1469. <https://doi.org/10.1126/science.1227604>. 338/6113/1465 [pi].
- Yang YL, Ahn JH, Lee KT, Shih le M, Choi JH (2014) RSFI is a positive regulator of NF-kappaB- induced gene expression required for ovarian cancer chemoresistance. *Cancer Res* 74(8):2258-2269. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-13-2459>.
- Yang L, Rau R, Goodell MA (2015) DNMT3A in haematological malignancies. *Nat Rev Cancer* 15(3):152-165. <https://doi.org/10.1038/nrc3895> Created using Matnyaar - <https://matnyaar.ir>.

واژه‌نامه

A/B compartment

در مقیاس بزرگ، کروموزوم‌ها به دو قسمت متمایز A و B سازماندهی می‌شوند که به موجب آن A به مناطق فعال و B به مناطق غیرفعال از نظر بیان ژن اشاره دارد. قسمت‌های A/B در مطالعات ربایش ترکیب کروماتین (Hi-C) مشاهده شد. محققان مشاهده کردند که تماس توالی‌های DNA کروموزوم‌های تکی، دو قسمت فضایی را نشان می‌دهد. مناطق در قسمت A ترجیحاً با مناطق مرتبط با قسمت A تعامل دارند. به‌طور مشابه، برهم‌کنش در قسمت B مشاهده شد اما بین قسمت A و B مشاهده‌نشده. نواحی مرتبط با قسمت A/B چندین مگا جفت باز طول دارند. درحالی‌که قسمت‌های A حاوی ژن‌های فعال هستند، قسمت‌های B تا حد زیادی غیرفعال در نظر گرفته می‌شوند.

Aleurone

آلئورون خارجی‌ترین لایه سلولی آندوسپرم در غلات است که اندوسپرم داخلی و نشاسته‌ای را احاطه کرده است. در ذرت، آلئورون رنگ‌دانه‌های آنتوسیانین تولید می‌کند که منجر به رنگ بنفش مایل به قهوه‌ای هسته‌های نوع وحشی می‌شود.

Allelic/biallelic/monoallelic expression

ژنوم دیپلوئیدی شامل دو نسخه از هر کروموزوم است. یک ژن می‌تواند از هر دو کروموزوم (بیان دو آلی) یا فقط از یک کروموزوم (بیان تک‌آلی) بیان شود. در صورت نشانه‌گذاری ژنومی، یک ژن تنها از کروموزوم مادری یا پدری به‌ارث‌رسیده، بیان می‌شود. تحلیلی که در نظر می‌گیرد رونوشت‌های آلی از کدام ال منشأ می‌گیرند، به‌عنوان تجزیه‌وتحلیل بیان آلی شناخته می‌شود.

Anabolism

فرایندی است که در آن بدن از انرژی برای ساختن مولکول‌های پیچیده استفاده می‌کند.

Anaplerosis

مسیرهای متابولیکی که حدواسطه‌های چرخه اسیدسیتریک را که برای متابولیسم انرژی ضروری هستند، دوباره پر می‌کنند.

Angiogenesis

فرایند ایجاد عروق خونی جدید. رگ‌زایی در طول تکوین طبیعی جنین بسیار مهم است. همچنین به‌نظر می‌رسد که در طول تشکیل تومور مهم باشد.

Anther

اندام زایشی نر گیاهان گلدار و محل میوز و گامتوژنز نر است. پس از میوز، هر چهار محصول میوز یعنی میکروسپورها زنده می‌مانند تا دانه‌گرده چند سلولی را از طریق دو تقسیم میتوزی تشکیل دهند. گرده حاوی دو سلول اسپرم است که در لقاح مضاعف شرکت می‌کنند.

Bivalent promoter

پروموتورهای دوظرفیتی با سرکوب و فعال کردن تنظیم‌کننده‌های اپی ژنتیک مشخص می‌شوند که معمولاً به‌صورت کروماتین تغییر داده‌شده دوگانه با H3K27me3 و H3K4me3 در یک منطقه مشاهده می‌شود. ژن‌های مرتبط به میزان پایین بیان می‌شوند و اغلب از نظر تکوینی تنظیم می‌شوند. کروماتین دوظرفیتی در سلول‌های بنیادی یا سلول‌های اجدادی مشاهده می‌شود و زمانی که این سلول‌ها به دودمان‌های مختلف

تمایز پیدا می‌کنند به کروماتین سرکوب‌شده و نشان‌دار H3K27me3 یا کروماتین فعال و نشان‌دار H3K4me3 تبدیل می‌شود.

Blastema

بلاستما توده‌ای از سلول‌های در حال تکثیر و تمایز نیافته است که توانایی بازسازی اندام‌ها و بافت‌ها را دارد. به‌نظر می‌رسد سلول‌ها پرتوان نیستند، اما پتانسیل تکوینی محدود بافت مبدأ را حفظ می‌کنند.

Blastocyst

بلاستوسیست یک مرحله اولیه تکوینی جنینی پستانداران را نشان می‌دهد. بلاستوسیست شامل توده سلولی داخلی است که پس از تکوین بیشتر به تشکیل جنین کمک می‌کند. لایه بیرونی بلاستوسیست تروفوبلاست نامیده می‌شود که جفت را ایجاد می‌کند. یک حفره در داخل، به نام بلاستوکول، پراز مایع است. سلول‌های توده سلولی داخلی پرتوان هستند و می‌توانند در کشت به‌عنوان سلول‌های بنیادی جنینی نگهداری شوند.

Bromodomain

برومودومین با هومولوژی توالی در ژن مگس میوه Brahma (از نام آن گرفته‌شده است) و ژن‌های دخیل در فعال‌سازی رونویسی، شناسایی شد. برومودومین‌ها تقریباً ۱۱۰ اسید آمینه دارند و لیزین‌های استیل‌ه N-ترمینال هیستون‌ها شناسایی می‌کند. از پروتئین‌های دارای برومودومین می‌توان به هیستون استیل ترانسفرازها و هیستون متیل ترانسفراز ASH1L اشاره کرد.

Central cell

سلول مرکزی دومین گامت ماده در گیاهان گلدار است که در لقاح مضاعف شرکت می‌کند. در بیشتر گونه‌ها، از نظر ژنتیکی با سلول تخم یکسان است؛ زیرا هر دو گامت ماده از یک محصول میوزی (مگاسپور عملکردی) از طریق تقسیمات میتوزی مشتق می‌شوند. با این حال، در بیشتر موارد، حامل دو نسخه از ژنوم مادر است و بنابراین، در مقایسه با سلول تخمک هاپلوئید، هومودیپلوئید است.

Chemoresistance

مقاومت تومور در برابر شیمی درمانی.

Chromodomain

کرومودومین با هومولوژی توالی تعریف می‌شود و به‌عنوان دمینی از حدود ۴۰-۵۰ اسید آمینه در پروتئین‌های مرتبط با کروماتین یافت می‌شود. پروتئین‌های حاوی کرومودومین شامل بایندهای هیستون‌های متیله‌شده، است. کرومودومی پروتئین هتروکروماتین ۱ میل ترکیبی با H3K9me3 دارد و کرومودومین پلی‌کومب برای H3K27me3 میل ترکیبی دارد.

Chromosome territory

قلمرو کروموزوم به حجمی اطلاق می‌شود که یک کروموزوم خاص در هسته سلول اشغال می‌کند. قلمروهای کروموزوم دارای شکل کروی و قطر چند میکرومتر هستند. DNA کروموزومی در اینترفاز یک پیکربندی تاخوردۀ شل را اتخاذ می‌کند. اگرچه مرزهای مشخصی بین قلمروهای کروموزوم مشاهده نشده است، ولی کروموزوم‌ها مناطق مجزایی را اشغال می‌کنند.

CIMP

CIMP فنوتیپ متیله‌کننده جزیره CpG به‌عنوان متیلاسیون مکرر چندین جزیره CpG که در بسیاری از انواع سرطان یافت می‌شود، تعریف می‌شود.

Circadian clocks

نوسانگرهای اندوژنوس که فرایندهای فیزیولوژیکی و رفتاری ۲۴ ساعته را در جانداران کنترل می‌کنند. این ساعت‌های خودکار سلولی از یک حلقه بازخورد خودتنظیمی مبتنی بر رونویسی/ترجمه تشکیل شده‌اند.

CpG island

آن‌ها توالی‌های کوتاه DNA پراکنده (طول ۵۰۰-۱۵۰۰ جفت باز) با دانسیته CG بالا در مقایسه با بیشتر ژنوم هستند. تقریباً ۷۰ درصد از پروموتورهای ژن حاشیه‌نویسی شده در ژنوم انسان و موش با CGI مرتبط هستند که این نوع پروموتور را به رایج‌ترین نوع پروموتور در ژنوم مهره‌داران تبدیل می‌کند. جزایر CpG معمولاً فاقد هرگونه متیلاسیون در سیتوزین‌ها هستند. p نشان‌دهنده پیوند فسفر-ریبوز است و برای روشن شدن این موضوع که جزایر CpG به دی‌نوکلئوتیدهای CG و نه GC اشاره دارد.

Crypt

تورفتگی کوچک به‌طور کلی، تورفتگی‌های کوچک ساختارهای آناتومیکی هستند که به‌صورت باریک اما تورفتگی عمیق هستند که یک ساختار بزرگ‌تر را تشکیل می‌دهند. در این مورد، اپیتلیوم روده به‌صورت یک تورفتگی پایه‌ای و یک پرز سازماندهی شده است. تورفتگی‌های کوچک روده کوچک حاوی سلول‌های بنیادی تکثیرشونده، سلول‌های پانت سیستم ایمنی ذاتی و سلول‌های جامی تولیدکننده مخاط است. پس از تقسیم سلول‌های بنیادی، یکی از دو سلول دختر به‌عنوان سلول بنیادی در تورفتگی کوچک باقی می‌ماند، درحالی‌که دیگری تمایز پیدا می‌کند و به سمت تورفتگی کوچک مهاجرت می‌کند و در نهایت سلول‌های تمایز یافته و ویژه‌ای را در پرز تشکیل می‌دهد.

Cuticular structure

حشرات توسط یک اسکلت بیرونی سفت و سخت از جنس کیتین محافظت می‌شوند. ساختار سگمنتال بدن حشره به‌خوبی در ساختار قفسه سینه و شکم نشان داده شد.

Double fertilization

لقاح مضاعف ویژه گیاهان گلدار است، جایی که تولیدمثل شامل دو رویداد لقاح می‌شود: یک سلول اسپرم با سلول تخمک ترکیب می‌شود و زیگوت را تشکیل می‌دهد، درحالی‌که اسپرم دوم با سلول مرکزی ترکیب می‌شود که به آندوسپرم تبدیل می‌شود. این دو محصول لقاح به‌طور هماهنگ به یک دانه تبدیل می‌شوند که با بافت‌های مادری که پوشش دانه را تشکیل می‌دهند، احاطه شده است. در بیشتر گونه‌ها، هر جفت گامت نر و ماده به‌ترتیب از نظر ژنتیکی یکسان هستند، یعنی از یک محصول میوز مشتق شده‌اند.

Genomic repeat

تکرارهای ژنومی توالی‌های DNA هستند که در چندین نسخه در سراسر ژنوم وجود دارند. تکرارها به تکرارهای پشت‌سرهم و تکرارهای پراکنده می‌تواند تقسیم شود که تکرارهای پراکنده نشان‌دهنده انواع مختلف عناصر قابل انتقال است. تکرارهای پشت‌سرهم در جهت یکسان یا مخالف در مجاورت یکدیگر قرار دارند، به‌عنوان مثال، تکرارهای ماهواره‌ای سانترومرها، ماهواره‌های کوچک (۱۰-۶۰ جفت باز) یافت شده در

بسیاری از مکان‌های ژنوم از جمله سانترومرها و ریزماهورها (بزرگ‌تر از ۱۰ جفت باز) که در سراسر ژنوم و تلومرها یافت می‌شوند.

Glycolysis

مسیر متابولیکی که گلوکز را به دو ترکیب سه کربنه می‌شکند و از طریق ساختن ATP و NADH انرژی تولید می‌کند.

Hemolymph

حشرات دارای سیستم گردش خون باز هستند. همولنف، مانند سیستم خونی در مهره‌داران، در بین وظایف دیگر، مسئول حمل مواد مغذی به اندام‌ها و انتقال سلول‌های سیستم ایمنی ذاتی به قسمت‌های آسیب دیده یا عفونی است.

Heterochromatin

دو شکل کروماتین با رنگ‌آمیزی سیتولوژیک سلول‌ها مشخص شدند. رنگ‌آمیزی تیره‌تر هتروکروماتین نسبت به یوکروماتین به دلیل بسته‌بندی متراکم‌تر است و عموماً در پیرامون هسته قرار دارد. با این حال، مشخص شده است که اشکال متمایزی از هتروکروماتین وجود دارد که از نظر مولکولی قابل تشخیص هستند. هتروکروماتین اصلی در تکرارهای پیرامون سانترومری با اتصال H3K9me3 و پروتئین هتروکروماتین ۱ مشخص می‌شود، در حالی که هتروکروماتین اختیاری کروموزوم X غیرفعال در پستانداران ماده با اتصال H3K27me3 و گروه پلی‌کومب مشخص می‌شود.

Histolyzed

در مگس‌هایی مانند مگس میوه در طول جنین‌زایی، دودمان‌های سلولی تشکیل‌دهنده ساختارهای بالغ (مانند صفحات انگاشتی) جدا از اندام‌ها و بافت‌های لارو ایجاد می‌شوند. طی دگردیسی، هورمون پوست اندازی اکدیسون باعث تشکیل شفیره می‌شود. در این دوره ساختارهای انگاشتی اندام و ضامم مگس بالغ را تشکیل می‌دهند. برعکس، ساختارهای لاروی به سمت زوال می‌روند (هیس‌تولیز می‌شوند).

Histone code

رمز هیستون یک فرضیه است که بیان می‌کند تغییرات شیمیایی در پروتئین‌های هیستون، رونویسی اطلاعات ژنتیکی را به شیوه‌ای ترکیبی تنظیم می‌کند. این مفهوم همراه با متیلاسیون DNA به یک رمز اپی‌ژنتیکی گسترش یافته است. اگرچه چنین رمزی از وضوح و کامل بودن کدون‌های اسیدهای آمینه که توسط ریبوزوم برای ترجمه استفاده می‌شوند، فاصله زیادی دارد، اما این مفاهیم هنوز برای بحث در مورد برهم‌کنش‌های ترکیبی بین تغییرات هیستون و تأثیر آن‌ها بر تنظیم ژن مفید هستند. دیدگاه حاضر از کلیت رمز هیستون صرف‌نظر کرده و یک دیدگاه بیوشیمیایی و مولکولی از فرایندهایی را که بر روی کروماتین کار می‌کنند و شامل تغییرات هیستون هستند، پذیرفته است.

Homeotic

هومئوژیس تبدیل یک اندام به اندامی با هویت دیگر را توصیف می‌کند. این امر می‌تواند نتیجه موتاسیون یا بیان نامناسب ژن‌های هومئوتیک باشد؛ تنظیم‌کننده‌های اصلی که در الگوسازی ساختارهای بدن و اندام نقش دارند.

Homo-diploid

یک سلول هومودیپلوئید حامل دو نسخه یکسان از ژنوم است. در بیشتر گونه‌ها، سلول مرکزی هومودیپلوئید است؛ زیرا حاوی دو هسته است که از یک محصول میوزی از طریق تقسیمات میتوزی مشتق شده‌اند. این دو هسته قبل یا در زمان لقاح با یک اسپرم هاپلوئید به هم می‌پیوندند و آندوسپرم تریپلوئید را تشکیل می‌دهند.

Hybrid

هیبرید، زادگانی است که از تولیدمثل جنسی بین دو والدین متعلق به رقم‌ها، گونه‌ها یا حتی جنس‌های مختلف حاصل می‌شود. در گیاهان، هیبریداسیون بسیار رایج است و محرک مهم تغییرات تکاملی است. هیبریداسیون می‌تواند منجر به تغییراتی در مقیاس ژنومی و اپی ژنومیک شود، به عنوان مثال، به ترتیب فعال شدن جابه‌جایی یا تغییرات در متیلاسیون DNA.

Hyperplasia

افزایش تعداد سلول‌ها در یک اندام یا بافت به دلیل ازدست‌دادن کنترل تکثیر را گویند. این سلول‌ها در زیر میکروسکوپ طبیعی به نظر می‌رسند. آن‌ها سرطانی نیستند اما ممکن است سرطانی شوند.

Hypomorphic

هیپومورف یک موتاسیون است که باعث ازدست‌دادن جزئی عملکرد ژن می‌شود. هیپومورف کاهش عملکرد ژن از طریق کاهش بیان در میزان RNA یا پروتئین یا کاهش فعالیت عملکردی است، اما ازدست‌دادن کامل نیست.

Imaginal disc

سلول‌های انگاشتی سلول‌های اجدادی (پیش ساز) ویژه بافت هستند که در طی جنین‌زایی مگس مشخص می‌شوند. اندازه آن‌ها با تکثیر در طول زندگی جنینی و لاروی افزایش می‌یابد، اما سلول‌ها تمایز پیدا نمی‌کنند. در دگردیسی، هورمون اکدیسون باعث تشکیل ساختارهای شفیرگی و بلوغ می‌شود، درحالی‌که بافت‌های لاروی حذف می‌شوند. صفحات انگاشتی شروع به تمایز می‌کنند و باعث ایجاد کوتیکول و زائده‌های خارجی مانند بال، پا یا شاخک می‌شوند.

Indels

به درج و/ یا حذف نوکلئوتیدها در DNA ژنومی اشاره دارد و شامل رویدادهایی با طول کمتر از ۱ کیلوباز است.

Insulator

عایق‌ها دسته‌ای از عناصر DNA هستند که توانایی محافظت از ژن‌ها در برابر پیام‌های تنظیمی نامناسب موجود در محیط همسایگی‌شان را دارند. عایق‌ها می‌توانند برهم‌کنش تقویت‌کننده‌ها با پروموتور را کنترل کنند. عایق‌ها همچنین به عنوان موانعی که مانع از پیشروی کروماتین متراکم می‌شوند، می‌توانند از ژن‌ها محافظت کنند که در غیر این صورت ممکن است بیان را خاموش کند (همچنین به PEV مراجعه کنید).

Interchromatin compartment

قسمت بین کروماتین به فضایی در هسته اشاره دارد که توسط کروماتین اشغال نشده است. این قسمت شامل کانال‌هایی در قلمروهای کروماتین است که تصور می‌شود انتشار عوامل رونویسی و پردازش و انتقال RNA پیام‌رسان را تسهیل می‌کنند.

LINE1

عنصر قابل انتقال فعال و خودکار که از طریق رتروترانسپوزیشن در ژنوم منتشر می‌شود.

Metastatic cancer

سرطانی است که از قسمتی از بدن که از آنجا شروع شده است (محل اولیه) به سایر نقاط بدن گسترش یافته‌است. هنگامی که سلول‌های سرطانی از تومور جدا می‌شوند، می‌توانند از طریق جریان خون یا سیستم لنفاوی به قسمت‌های دیگر بدن بروند.

Methylome

متیلوم تمام سیتوزین‌های متیله‌شده در ژنوم یک جاندار، بافت یا سلول را توصیف می‌کند.

Microspore

میکروسپور محصول میوز در اندام‌های تناسلی نر گیاهان گلدار است. هر چهار میکروسپور زنده می‌مانند و گرده‌های بالغ را از طریق دو تقسیم میتوزی تشکیل می‌دهند. هر گرده حاوی دو سلول اسپرم است که توسط لوله گرده به گامت‌های ماده برای لقاح مضاعف تحویل داده می‌شود.

Myeloproliferation

تکثیر غیرطبیعی سلول‌های میلوپوئیتیک از مغز استخوان است. اختلالات میلوپرولیفراتیو به نوعی بیماری اشاره دارد که در آن مغز استخوان تعداد زیادی گلبول قرمز، پلاکت یا گرانولوسیت (نوعی از گلبول‌های سفید خون) تولید می‌کند.

Neoplasm

توده غیرطبیعی بافتی است که رشد و تقسیم سلول‌های آن بیشتر از حد معمول است و عمر طولانی دارند؛ یعنی هنگامی که باید بمیرند، نمی‌میرند. نئوپلاسم‌ها ممکن است خوش‌خیم (نه سرطانی) یا بدخیم (سرطان) باشند. نئوپلاسم‌های خوش‌خیم ممکن است بزرگ شوند اما به بافت‌های مجاور یا سایر قسمت‌های بدن گسترش نمی‌یابند یا به آن‌ها حمله نمی‌کنند. نئوپلاسم‌های بدخیم می‌توانند به بافت‌های مجاور گسترش یابند یا به آن‌ها حمله کنند. آن‌ها همچنین می‌توانند از طریق خون و سیستم لنفاوی به سایر قسمت‌های بدن گسترش پیدا کنند.

Nonsense mutations

یک موتاسیون نقطه‌ای در توالی DNA است که منجر به ایجاد کدون پایان زودرس می‌شود و باعث می‌شود پروتئین زودتر از زمان موردنیاز ترجمه خود را خاتمه دهد یا به پایان برساند. در مقابل، موتاسیون نادرست یک موتاسیون نقطه‌ای است که منجر به جایگزینی یک اسیدآمینه به جای اسیدآمینه دیگر در پروتئین می‌شود.

Nucleosome free region

مناطق بدون نوکلئوزوم به نوکلئوزوم تکی از دست‌رفته در محل شروع رونویسی ژن‌های فعال اشاره دارد. این امر پیامدش ایجاد دسترسی به DNA در پروموتور است که واسطه اتصال عوامل رونویسی و سرهم‌بندی ماشین رونویسی است. نوکلئوزوم‌ها در مجاورت ناحیه بدون نوکلئوزوم با قدرت مستقر شده‌اند. نوکلئوزوم +۱ و -۱ به ترتیب در پایین دست و بالادست محل شروع رونویسی قرار دارند. هیستون H2A.Z به‌طور خاص در نوکلئوزوم +۱ و چندین نوکلئوزوم پایین دست گنجانده شده است.

Oncogenes

ژن‌هایی که پتانسیل تبدیل شدن به عوامل تعیین کننده انکوژنیک غالب در تومورزایی را دارند.

Oncometabolites

متابولیت‌هایی که مقدار آن‌ها در تومورها نسبت به سلول‌های طبیعی افزایش پیدا می‌کند.

Ontogeny

این امر به تاریخچه طول عمر تکوینی یک جاندار در مقایسه با فیلوژنی که به تاریخچه تکاملی یک گونه می‌پردازد، اشاره دارد.

Ovule

تخمک اندام تولیدمثلی ماده گیاهان گلدار و محل میوز و گامت‌زایی ماده است. پس از میوز، تنها یکی از محصولات میوز یعنی مگاسپور عملکردی زنده می‌ماند که از طریق چندین تقسیم میتوزی تشکیل یک جاندار چندسلولی را می‌دهد. دو نوع از سلول‌های تشکیل شده، گامت‌های ماده، تخمک و سلول‌های مرکزی هستند. پس از لقاح، تخمک به دانه تبدیل می‌شود.

Paracrine signaling

انتقال اطلاعات از یک سلول به سلول دیگر، جایی که مولکول پیام از سلول تولیدکننده پیام به سلول گیرنده پیام توسط انتشار غیرفعال یا جریان توده‌ای در مایع بین سلولی حرکت می‌کند. سلول پیام‌دهنده و سلول گیرنده معمولاً در مجاورت یکدیگر قرار دارند.

Paused polymerase

مکث یا توقف Pol II با میزان وقوع متفاوت در موارد انسداد توسط نوکلئوزوم‌ها، نیاز به تصحیح و غیره ایجاد می‌شود. در این موقعیت، مکث پروموتور پروگزیمال یک مرحله تنظیمی مهم در طول شروع رونویسی در نظر گرفته می‌شود. Pol II متوقف شده در پروموتور، رونوشت‌های RNA مخصوص کوتاهی تولید می‌کند. پس از یک آبشار فعال کننده اضافی از عوامل (به متن مراجعه کنید) پلیمراز رها می‌شود و رونوشت مولد را تولید می‌کند. مکث برای هماهنگی بهتر در فعال سازی ژن، به عنوان یک نقطه بازرسی برای سرهم‌بندی اجزای رونویسی و به کامل کردن پیام اضافی و موارد دیگر می‌تواند نیاز باشد.

Pericentric chromatin/regions/repeats

سانترومرهای کروموزوم‌های پستانداران با توالی‌های تکرار شده متشکل از توالی‌های تکراری ماهواره‌ای کوچک و بزرگ احاطه شده‌اند. این تکرارهای پیرامون سانترومر از سانترومرها متمایز هستند و به ایجاد یک محیط هتروکروماتیک که از عملکرد سانترومر پشتیبانی می‌کند، کمک می‌کنند. هتروکروماتین که در مجاورت سانترومرها قرار دارد به عنوان هتروکروماتین پیرامون سانترومری نامیده می‌شود.

Phagocytosis

فرایندی را توصیف می‌کند که طی آن یک سلول (فاگوسیت نامیده می‌شود) از غشای پلاسمایی خود برای بلعیدن ذرات بزرگ یا سایر سلول‌ها استفاده می‌کند که باعث ایجاد یک بخش داخلی به نام فاگوزوم می‌شود. این اتفاق یک شکل خاص از اندوسیتوز است. فاگوسیتوز مکانیسم اصلی سیستم ایمنی برای حذف پاتوژن‌ها و بقایای سلولی است.

Phyla

شاخه‌ها (مفرد: شاخه) نشان‌دهنده سطح طبقه بندی یا رتبه طبقه بندی زیرسلسله و بالاتر از طبقه است.

Pioneer TF

عامل رونویسی پیشگام می‌تواند توالی هم‌ریشه خود را تشخیص دهد و به آن متصل شود، حتی هنگامی که DNA در یک ساختار نوکلئوزومی پیچیده شده باشد. عوامل رونویسی پیشگام کمپلکس‌های بازسازی نوکلئوزومی و آنزیم‌های تغییردهنده هیستون را برای شل و بازکردن بیشتر کروماتین متراکم جذب می‌کنند تا به عوامل اضافی مورد نیاز برای مثال برای سرهم‌بندی کمپلکس آغاز رونویسی روی DNA آزاد، دسترسی پیدا کنند.

Position effect variegation (PEV)

تنوع اثر موقعیت (PEV) باعث می‌شود که یک ژن به‌طور تصادفی در مناطقی که معمولاً باید بیان شود خاموش شود. این اتفاق هنگامی رخ می‌دهد که ژن در یک رویداد جابه‌جایی یا درج ژنوم، در کنار هتروکروماتین قرار می‌گیرد. هتروکروماتین سرکوبگر، بدون مهار عناصر عایق، به بخش تنظیم‌کننده ژن گسترش پیدا می‌کند. به‌عنوان مثال، رنگ چشم‌های متنوع در مگس سرکه ناشی از انتقال ژن سفید به مجاورت هتروکروماتین است.

Protamines

پروتامین‌ها پروتئین‌های کوچک و غنی از آرژنین هستند که در اواخر اسپرم‌سازی جایگزین هیستون‌های کروماتین می‌شوند. آن‌ها امکان بسته‌بندی متراکم تر DNA را فراهم می‌کنند و برای تراکم سر اسپرم و تثبیت ژنوم بسیار مهم هستند.

Prototrophic organism

یک جاندار یا سلولی که بدون نیاز به مواد مغذی آلی، قادر به سنتز تمام متابولیت‌های خود از مواد معدنی است.

Pseudoautosomal region

در سیستم‌های کروموزوم جنسی هترومورفیک، جفت‌شدن به نواحی خاصی که شباهت مشترک دارند، محدود می‌شود. به‌عنوان مثال، کروموزوم‌های X و Y پستانداران از هم جدا شده‌اند، اما در انتهای کروموزوم‌ها نواحی کوچکی دارای شباهت مشترک هستند. از طریق این نواحی جفت‌شدن و تبادل توالی‌ها توسط تقاطع و تبادل طی میوز در رده زایای نر اتفاق می‌افتد؛ بنابراین، این مناطق جفتی در X و Y مانند اتوزوم‌ها رفتار می‌کنند و به‌عنوان نواحی شبه اتوزومال (PAR) کروموزوم‌های جنسی شناخته می‌شوند.

Retrovirus element

یک رتروویروس یک نسخه از ژنوم RNA خود را در DNA سلول میزبانی که به آن حمله کرده، وارد می‌کند. RNA توسط ترانس کریپتاز معکوس رمزگذاری شده، توسط ژنوم ویروس، در DNA کپی می‌شود. سپس DNA ویروسی بخشی از ژنوم میزبان می‌شود. DNA در آنجا دوباره می‌تواند رونویسی شود و روند تولید ویروس جدید را دوباره فعال کند. ژنوم‌ها مملو از چنین عناصر رترو هستند که در بیشتر موارد نشان دهنده ژنوم‌های ویروسی مرده و معیوب هستند.

Sciara/Fungus gnat

سیارا (مگس/پشه)، یک جنس از مگس‌ها/پشه‌های قارچی؛ حشراتی که برای فرایند حذف ژنوم مطالعه شده‌اند. بررسی ژنتیک و کروماتین در سیارا نیز بینش‌هایی را در مورد تکامل فرایندهای اپی‌ژنتیکی نشان

داده است. مگس‌ها/ پشه‌های قارچی بی‌ضرر هستند و از قارچ‌های رشدیافته در خاک تغذیه می‌کنند. لاروها در برخی گونه‌ها پاتوژن‌های گیاهی هستند و می‌توانند به‌ویژه به نهال‌ها و گیاهان جوان آسیب بزنند.

Sex combs

مجموعه‌ای از موهای زیر تیره که روی جفت پای اول مگس‌های نر سرکه یافت می‌شود و برای جفت‌گیری استفاده می‌شود. نشانگر مورفولوژیکی قابل توجهی که توسط متخصصان ژنتیک برای شناسایی تبدیل‌های هوموتیک جفت پای دوم و سوم به هویت جفت پای اول استفاده می‌شود.

Synthetic lethality

موقعیتی که در آن غیرفعال‌سازی هر یک از دو ژن به‌صورت جداگانه تأثیر کمی بر زنده ماندن سلول دارد درحالی‌که ازدست‌دادن عملکرد هر دو ژن به‌طور همزمان منجر به مرگ سلول می‌شود. در سرطان، مفهوم کشندگی مصنوعی برای درمان سلول‌های سرطانی به کار رفته است که در آن یک ژن با حذف یا موتاسیون موجود غیرفعال می‌شود و دیگری از نظر دارویی مهار می‌شود و منجر به مرگ سلول‌های سرطانی می‌شود. سلول‌های طبیعی یا سرطانی فاقد این موتاسیون‌ها زنده می‌مانند.

Teratocarcinoma

تراتوکارسینوم شکلی از تومور سلول زایای بدخیم است که در حیوانات و انسان‌ها یافت می‌شود. این تومورها حاوی یک جزء کارسینوم جنینی تمایزنیافته و مشتقات تمایزنیافته‌ای هستند که می‌توانند شامل هر سه لایه زایا هستند.

Transdetermination

تراتعیین به‌عنوان یک تغییر در الزام دودمان در سلول‌های پیش‌ساز (یعنی صفحات انگاشتی پا) به یک نوع سلول نزدیک به تکوین (یعنی صفحه انگاشتی بال) تعریف می‌شود. این تغییر سرنوشت می‌تواند به‌عنوان مثال در آزمایش‌های پیوند طولانی مدت صفحات انگاشتی لارو مگس سرکه رخ دهد.

Transdifferentiation

تراتمایز هنگامی رخ می‌دهد که یک سلول سوماتیک تمایزنیافته بدون مرحله میانی تمایززدایی (مانند حالت پرتوان یا پیش‌ساز) به دودمان تمایزنیافته دیگر تغییر می‌کند.

Transposable element

عنصر قابل انتقال یک توالی DNA است که می‌تواند موقعیت خود را در ژنوم تغییر دهد. عنصر قابل انتقال آنزیم‌های لازم برای بریدن و الحاق خود را رمز می‌کنند. درج عناصر قابل انتقال می‌تواند باعث موتاسیون‌ها و انحرافات ژنومی در مقیاس بزرگ شود.

Tumor suppressor gene

دسته‌ای از ژن‌ها که تکثیر سلولی و غیرفعال‌سازی آن‌ها را تنظیم می‌کنند، می‌توانند نقش عمیقی در تکوین بدخیمی ایفا کنند.

X inactivation center

مرکز غیرفعال‌سازی X به یک مکان ژنتیکی روی کروموزوم X موش و انسان اشاره دارد که حاوی عناصر تنظیمی برای غیرفعال‌سازی کروموزوم X است. مرکز غیرفعال‌سازی X شامل ژن رونوشت ویژه غیرفعال X و همچنین عناصری است که به سلول امکان می‌دهد تعداد کروموزوم X موجود را حس کند. همه

کروموزوم‌های X به‌جز یکی غیرفعال می‌شوند که منجر به بیان متعادل ژن کروموزوم X منفرد در سلول‌های نر و ماده می‌شود.

Xenograft

یکی از پرکاربردترین مدل‌ها در تحقیقات سرطان است. به‌طور معمول، سلول‌های تومور انسانی، در زیر پوست یا در اندامی که تومور در آن منشأ گرفته است، به موش‌های دارای نقص ایمنی که سلول‌های انسانی را پس نمی‌زنند، پیوند می‌شوند.

نمایه

انواع هیستون ۵، ۶، ۳۶، ۴۰، ۵۳، ۵۶، ۲۰۰،
۲۲۶، ۲۲۷

انواع هیستون ها ج، ۵۶
ایزوسیترات دهیدروژناز ۲/۱ ۲۱۹

آ

آرگونات ۱۶۲، ۱۶۳، ۱۶۴، ۱۶۶، ۱۷۰، ۱۷۱، ۱۷۹
آزاسیتیدین ۲۲۰، ۲۲۱، ۲۲۲، ۲۴۲
آغاز ۴۰، ۴۴، ۴۵، ۴۶، ۴۸، ۵۶، ۶۰، ۸۴، ۹۵،
۱۰۵، ۱۰۷، ۱۱۲، ۱۱۳، ۱۱۵، ۱۱۶، ۱۱۷، ۱۱۹،
۱۳۷، ۱۸۸، ۱۹۳، ۲۵۳، ۲۶۸، ۲۹۲

آلفا - کتوگلو تارات ۲۶
آندوسپرم ۱۲۷، ۱۲۸، ۱۳۰، ۱۴۳، ۱۴۴، ۱۴۵،
۱۴۶، ۱۴۷، ۱۴۹، ۱۵۰، ۱۵۱، ۱۵۲، ۱۵۳،
۱۷۳، ۲۸۵، ۲۸۷، ۲۸۹

آنزیم های یوبی کوئیتینه کننده ۱۷

ب

باززایی ج، ۱۸۴، ۱۸۵، ۱۸۶، ۱۸۷، ۱۸۸، ۱۸۹،
۱۹۱، ۱۹۲، ۱۹۳، ۲۰۳، ۲۲۳

باززایی اپی مورفیک ۱۸۷، ۲۰۳
باززایی ترمیمی ۱۸۶

بازسازی نوکلئوزومی و کمپلکس
هیستون داستیلاز ۲۳۷، ۲۴۰

برومودمین ۱۶، ۷۸، ۸۷، ۲۲۸، ۲۳۰، ۲۳۳،
۲۳۴، ۲۳۶، ۲۳۹، ۲۴۳، ۲۸۶

بلاستما ۱۸۶، ۱۸۷، ۱۸۸، ۱۸۹، ۱۹۰، ۱۹۱، ۱۹۲،
۲۰۳، ۲۸۶

بلاستوسیت ۱۹۲، ۱۹۵، ۱۹۶، ۲۸۶

۵

۵-متیل سیتوزین ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۱۸، ۲۲۰

D

DNA متیل ترانسفراز A۳ ۱۳۷
DNA گلیکوزیلاز ۱۴۷
DNA متیل ترانسفراز a۳ ۲۱۶
DNA متیل ترانسفراز ها ۱۸، ۱۹، ۲۱، ۲۲، ۲۲۰،
۲۴۲، ۲۲۲

DNA نیمه متیله ۲۲، ۲۳، ۲۲۰
DNA نیمه متیله شده ۲۰

R

RNA های طویل غیر رمز کننده ۴۴، ۱۶۵
RNA های کوتاه مداخله گر ۱۶۲، ۱۶۳، ۱۶۴،
۱۶۵، ۱۶۷، ۱۶۸، ۱۶۹، ۱۷۰، ۱۷۱، ۱۷۳،
۱۷۷

RNA های برهم کنشی با Piwi ۱۷۰

S

S-آدنوزیل متیونین ۲۷۰

I

اجسام گروه پلی کومب ۷۵
اختلالات نشانه گذاری ۱۴۰، ۱۴۱، ۱۴۳
ارگانوئید ۱۹۳، ۲۰۱
استیل کوآ آنزیم A ۲۳۵، ۲۴۹
اسید تری کربوکسیلیک ۲۵۰
انتقال هسته ای ۱۳۱، ۱۹۵
انکومتابولیت ۲۱۹، ۲۷۷

تشدیدکننده هومولوگ زست ۲۲۴۲، ۲۲۵

۲۴۳، ۲۳۸، ۲۲۹، ۲۲۶

تعیین جنسیت ۱۲۰، ۱۱۴، ۹۸، ۹۴، ۹۳

تغییرات هیستون X، ذ، ۲، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱، ۱۳

۱۵، ۱۶، ۱۷، ۲۲، ۲۴، ۲۶، ۳۱، ۳۶، ۴۰، ۴۴

۶۱، ۶۵، ۷۸، ۷۹، ۸۸، ۱۱۲، ۱۲۵، ۱۴۷

۱۴۹، ۱۵۹، ۱۶۴، ۱۷۲، ۱۷۳، ۲۰۰، ۲۰۲

۲۸۸، ۲۱۰

تمایز، ۱۴، ۲۷، ۶۵، ۶۶، ۶۷، ۸۷، ۹۸، ۱۰۷

۱۰۸، ۱۱۷، ۱۲۷، ۱۴۴، ۱۴۶، ۱۵۲، ۱۸۵

۱۸۶، ۱۸۷، ۱۸۸، ۱۹۲، ۱۹۳، ۱۹۴، ۱۹۷

۱۹۸، ۱۹۹، ۲۰۰، ۲۰۱، ۲۰۲، ۲۰۳، ۲۰۴، ۲۱۶

۲۱۷، ۲۱۹، ۲۲۵، ۲۳۰، ۲۳۴، ۲۳۵، ۲۳۶

۲۳۸، ۲۴۰، ۲۴۲، ۲۴۳، ۲۵۴، ۲۷۲، ۲۸۶

۲۸۹، ۲۸۷

تمایز درمانی ۸۷

توده سلولی داخلی ۱۹۲، ۱۹۴، ۱۹۵، ۱۹۶، ۲۸۶

تومورهای جنینی ۲۱۳

ج

جابه جایی ۱۱-۲۷۱۰، ۱۳۸، ۲۱۶، ۲۱۷، ۲۱۸

۲۱۹، ۲۴۲، ۲۷۲، ۲۷۳، ۲۷۵، ۲۷۸

جابه جایی B-A ۱۲۹، ۱۲۸

جایگاه ۴۳، ۵۴، ۸۰، ۸۱، ۸۲، ۸۵، ۹۴، ۱۲۵

۱۲۷، ۱۲۸، ۱۳۰، ۱۳۳، ۱۳۵، ۱۴۱، ۱۴۵

۱۴۷، ۱۶۹، ۱۷۲، ۱۷۴، ۱۷۵، ۱۷۶، ۱۷۷

۱۷۸، ۱۹۳، ۲۱۳، ۲۳۷

جایگاه B ۱۷۴

جایگاه گلدهی C ۸۱، ۸۲

جزایر CpG ۲۱، ۲۸، ۷۳، ۷۴، ۲۱۰، ۲۱۱، ۲۸۷

پ

پاراموتاسیون ۱۵۹، ۱۷۴، ۱۷۵، ۱۷۶، ۱۷۷

۱۷۸، ۱۷۹

پرتوان ۱۳۸، ۱۸۵، ۱۸۷، ۱۹۲، ۱۹۴، ۱۹۵، ۱۹۷

۱۹۸، ۱۹۹، ۲۰۰، ۲۰۱، ۲۰۲، ۲۰۳، ۲۰۴، ۲۱۷

۲۱۹، ۲۴۱، ۲۵۴، ۲۸۶، ۲۹۳

پروتئین متصل شونده به متیل- سیتوزین ۲

۲۳.....

پروتئین های خانواده موتیف اکستراترمینال

۲۳۴.....

پستانداران جفت دار ۹۴، ۹۵، ۱۰۴، ۱۰۵، ۱۱۴

۱۱۵، ۱۱۷

پلی کومب ۳، ۱۴، ۱۶، ۲۸، ۴۳، ۴۶، ۵۰، ۶۵

۶۷، ۶۸، ۶۹، ۷۰، ۷۱، ۷۲، ۷۳، ۷۴، ۷۵

۷۶، ۷۷، ۷۸، ۷۹، ۸۰، ۸۱، ۸۲، ۸۳، ۸۴

۸۵، ۸۷، ۸۸، ۱۰۷، ۱۱۱، ۱۱۲، ۱۴۳، ۱۴۸

۱۴۹، ۱۵۰، ۱۵۱، ۱۵۴، ۱۸۹، ۱۹۰، ۲۰۳، ۲۱۱

۲۲۳، ۲۲۴، ۲۲۵، ۲۲۶، ۲۲۷، ۲۲۹، ۲۳۸

۲۴۲، ۲۸۶، ۲۸۸

پلیمراز II متوقف شده ۴۸، ۴۶

پیش هسته ها ۱۳۱

ت

ترتیب ۲۹۳، ۱۸۹

ترتیب ۲۹۳، ۲۰۳، ۱۸۹، ۱۸۸

ترازن ۱۷۱، ۱۷۰، ۱۶۹، ۱۶۸، ۱۶۱، ۱۶۰، ۴۳

تری توراکس ۳، ۶۵، ۶۷، ۶۸، ۶۹، ۷۰، ۷۱

۷۳، ۷۴، ۷۶، ۷۷، ۷۸، ۷۹، ۸۰، ۸۳، ۸۶

۸۷، ۸۸

تری کوستاتین A ۲۳۶

دوپایداری..... ۷۸
 دیسژنزیس هیبریدی..... ۱۷۰

ر

رونوشت ویژه غیرفعال X..... ۱۱۰, ۱۰۶
 رونوشت ویژه فعال X..... ۱۱۷
 رونویسی خ. د, ۲, ۳, ۶, ۷, ۱۳, ۱۴, ۱۵, ۱۶,
 ۲۱, ۲۴, ۲۹, ۳۹, ۴۱, ۴۲, ۴۴, ۴۵, ۴۶,
 ۴۸, ۴۹, ۵۰, ۵۱, ۵۲, ۵۳, ۵۵, ۵۶, ۵۸,
 ۶۰, ۶۵, ۶۶, ۶۸, ۶۹, ۷۰, ۷۱, ۷۳, ۷۴,
 ۷۵, ۷۶, ۷۷, ۷۸, ۷۹, ۸۰, ۸۱, ۸۲, ۸۳,
 ۸۴, ۸۵, ۸۶, ۸۷, ۸۸, ۹۳, ۹۶, ۹۸, ۹۹,
 ۱۰۴, ۱۰۵, ۱۰۶, ۱۱۳, ۱۱۵, ۱۱۸, ۱۱۹,
 ۱۳۵, ۱۳۷, ۱۴۴, ۱۴۵, ۱۴۶, ۱۴۷,
 ۱۴۹, ۱۵۱, ۱۵۹, ۱۶۴, ۱۶۵, ۱۶۶, ۱۶۷,
 ۱۶۸, ۱۷۰, ۱۷۱, ۱۷۲, ۱۷۵, ۱۷۶, ۱۷۹,
 ۱۸۸, ۱۹۰, ۱۹۵, ۱۹۷, ۱۹۹, ۲۰۰, ۲۰۳, ۲۱۱,
 ۲۲۱, ۲۲۲, ۲۲۳, ۲۲۴, ۲۲۵, ۲۲۷, ۲۲۹,
 ۲۳۰, ۲۳۲, ۲۳۳, ۲۳۵, ۲۳۶, ۲۳۸,
 ۲۳۹, ۲۴۱, ۲۴۳, ۲۵۱, ۲۵۳, ۲۵۷, ۲۶۱,
 ۲۶۲, ۲۶۸, ۲۶۹, ۲۷۰, ۲۷۱, ۲۸۶, ۲۸۷,
 ۲۸۸, ۲۸۹, ۲۹۰, ۲۹۱, ۲۹۲

ژ

ژن RNA غیررمزکننده نشانه‌گذاری شده
 ۱۳۵, ۱۳۴
 ژن القاپذیر..... ۵۵, ۴۴

س

ساییدگی کروموزوم‌های جنسی..... ۹۴

جسم بار..... ۱۰۵, ۱۰۶

چ

چاپرون‌های هیستون ۳۹, ۴۲, ۵۶, ۵۷, ۱۹۹,
 ۲۰۰
 چندتوان..... ۱۸۷, ۱۹۲, ۱۹۳, ۲۰۲, ۲۰۳
 چنگال همانندسازی ۴۰, ۵۶, ۵۷, ۵۸, ۵۹,
 ۲۲۱, ۲۲۰

ح

حافظه سلولی ۶۴, ۶۶, ۶۷, ۶۸, ۷۸, ۸۵,
 ۸۶, ۸۸, ۱۸۵, ۱۸۹, ۱۹۸, ۱۹۹, ۲۰۴, ۲۲۳
 حفظ ساختاری کمپلکس‌های کروموزوم‌ها
 ۳۵

خ

خاموشی القاشده با RNA..... ۱۶۴, ۱۶۶
 خاموشی ژن القاشده با ویروس..... ۱۶۹
 خاموشی ژن در سطح پس از رونویسی..... ۱۶۰,
 ۱۶۱, ۱۶۷, ۱۶۸, ۱۷۰
 خاموشی ژن در سطح رونویسی ۱۵۹, ۱۶۰,
 ۱۶۴, ۱۶۷, ۱۶۸, ۱۷۰

د

دایسر ۱۶۲, ۱۶۳, ۱۶۶, ۱۶۷, ۱۶۸, ۱۷۰, ۱۷۱,
 ۱۷۹
 دروشا..... ۱۶۶
 دسیتابین..... ۲۲۰, ۲۲۲, ۲۴۲
 دمین متصل‌شونده به DNA کرومومدین
 ۵۲
 دمین‌های دوظرفیتی..... ۷۸, ۷۹

عناصر پاسخ پلی کومب ۷۳، ۷۴، ۷۶، ۷۷،
۸۸، ۸۵، ۸۲
عصر کنترل نشانه گذاری ۱۳۳، ۱۳۴، ۱۳۵،
۱۳۶، ۱۳۷، ۱۴۲، ۱۴۳، ۱۴۸، ۱۵۱
عوامل کشنده خاص نر ۹۸.....

غ

غیرفعال سازی کروماتین جنسی میوزی ۱۰۴،
۱۰۵
غیرفعال سازی کروموزوم ۳X، ۹۵، ۱۰۴، ۱۰۵،
۱۰۷، ۱۱۱، ۱۱۲، ۱۱۳، ۱۱۵، ۱۱۶، ۱۲۱، ۱۳۰،
۱۳۵، ۱۷۹، ۲۹۳

ف

فاکتور رشد شبه انسولین نوع ۲..... ۱۳۶، ۱۵۳
فراپایداری ۱۷۴، ۱۷۶.....
فلاوانزیم ها..... ۲۷۱
فلوین آدنین دی نوکلئوتید..... ۲۷۰، ۲۷۱
فناوری CRISPR/Cas9..... ۲۰۲
فنوتیپ متیله کننده جزیره CpG..... ۲۴۰

ق

قطرات فازی مجزا..... ۷۵
قلمروهای کروموزوم..... ۲۹، ۲۸۶
قلمروهای کروموزومی..... ۲، ۲۹، ۳۶، ۱۹۸

ک

کاندنسین..... ۳۵، ۱۱۸
کرومومین..... ۱۰، ۱۶، ۵۲، ۷۰، ۷۵، ۱۱۲
کروموزوم جنسی ۹۳، ۹۴، ۹۵، ۹۶، ۹۸، ۱۰۳،
۱۰۴، ۱۱۴، ۱۱۵، ۱۲۱، ۲۹۲

سلول های بنیادی پرتوان القایی ۱۹۷، ۱۹۸،
۲۰۰، ۲۰۱، ۲۰۲، ۲۰۳، ۲۰۴

سلول های بنیادی جنینی موش..... ۷۹، ۱۹۷
سلول های بنیادی خون ساز ۱۹۲، ۲۰۳، ۲۱۶،
۲۱۷، ۲۱۸، ۲۱۹، ۲۴۲

سلول های بنیادی سرطانی..... ۲۲۴، ۲۲۵، ۲۲۹
سلول های زایای اولیه ۱۳۹، ۱۴۳، ۱۹۴، ۱۹۵،
۱۹۶

سلول های زایای اولیه ای..... ۱۳۷
سندرم آنجلمن..... ۱۴۱، ۱۴۲، ۱۴۳
سندرم بکویت-ویدمن..... ۱۴۰، ۲۱۵
سندرم پرادر-ویلی..... ۱۴۱، ۱۴۲، ۱۴۳
سوبرویلانلید هیدروکسامیک اسید..... ۲۳۶
سوئیچ تقلیدی..... ۵۱، ۲۳۹
سوئیچینگ معیوب/ غیر تخمیری ساکارز.....
۲۳۷
سیرتوئین ۲۳۴، ۲۵۶، ۲۵۷، ۲۶۰، ۲۶۱، ۲۶۲،
۲۶۳

ص

صفحات انگاشتی ۶۶، ۸۷، ۱۸۹، ۱۹۰، ۲۰۳،
۲۸۸، ۲۸۹، ۲۹۳

ط

طول سازی ۴۰، ۴۲، ۴۴، ۴۶، ۴۸، ۷۹، ۲۳۳

ع

عامل سرهم بندی کروماتین ۱..... ۵۷، ۷۰
عامل متصل شونده به CCCCTC ۲۴، ۳۵،
۴۳، ۱۳۵، ۱۳۶، ۲۱۴
عایق ها..... ۴۳، ۱۳۵، ۲۸۹

۲۱۶، ۲۲۱، ۲۲۲، ۲۴۲، ۲۴۹، ۲۶۱،
 ۲۶۵، ۲۶۸، ۲۶۹، ۲۸۸، ۲۸۹
 متیلاسیون DNA وابسته به RNA.....۱۵۹
 ۱۶۷، ۱۷۱، ۱۷۳، ۱۷۴، ۱۷۶، ۱۷۷، ۱۷۹
 متیونین آدنوزیل ترانسفراز.....۲۷۰
 محدودیت کالری.....۲۵۷، ۲۶۰، ۲۶۱، ۲۷۹
 مرکز غیرفعال سازی X.....۱۰۵، ۲۹۳
 مکان فوق حساس به DNaseI.....۵۵
 مناطق شبه اتوزومی.....۱۱۴
 مورفالاکسی.....۱۸۶
 موش های آگوتی.....۲۶۸
 موقعیت چرخشی.....۴۱
 مول هیداتیدفرم.....۱۳۲
 میکرو RNA.....۱۶۳، ۱۶۵، ۱۶۶

ن

ناحیه متیله شده به طور افتراقی.....۲۱۳
 نرهای غایب در نخستین.....۹۸، ۹۹
 نشانه.....۱۴، ۷۹
 نشانه گذاری ژنومی ذ، ۳، ۲۲، ۱۲۵، ۱۲۷، ۱۲۹،
 ۱۳۰، ۱۳۱، ۱۳۲، ۱۳۳، ۱۳۷، ۱۴۰، ۱۴۳،
 ۱۴۴، ۱۴۵، ۱۴۶، ۱۴۷، ۱۴۸، ۱۵۰، ۱۵۱،
 ۱۵۳، ۱۵۴، ۱۵۹، ۱۷۹، ۲۱۴، ۲۸۵
 نظریه تعارض والدین.....۱۵۱، ۱۵۲، ۱۵۳، ۱۵۴
 نوکلئوزوم خ، ۴، ۵، ۷، ۸، ۱۰، ۱۵، ۱۶، ۲۹، ۳۰،
 ۳۲، ۳۹، ۴۱، ۴۲، ۴۴، ۴۵، ۴۸، ۴۹، ۵۰،
 ۵۱، ۵۲، ۵۳، ۵۴، ۵۶، ۵۷، ۶۰، ۶۱، ۷۰،
 ۷۴، ۷۷، ۷۸، ۸۸، ۱۷۳، ۱۹۹، ۲۳۹،
 ۲۴۱، ۲۹۰

کمپلکس پیش آغازی.....۴۲
 کمپلکس جبران دُز ۹۸، ۹۹، ۱۰۰، ۱۰۱، ۱۰۳،
 ۱۱۸، ۱۱۹، ۱۲۰، ۱۲۱
 کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۲.....۷۵
 کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۱.....۲۲۳،
 ۲۲۵
 کمپلکس سرکوب کننده پلی کومب ۷۵۲، ۸۴،
 ۱۱۲، ۱۱۹، ۱۴۶، ۱۴۸، ۱۵۱، ۲۲۳، ۲۲۴،
 ۲۲۵، ۲۲۶، ۲۲۷، ۲۲۸، ۲۴۲
 کمپلکس های بازسازی کروماتین ۴۹، ۵۱،
 ۲۳۷، ۲۴۱
 کوهسین.....۳۴، ۳۵، ۴۳
 کیسه داران.....۹۵، ۱۰۵، ۱۱۷، ۱۳۰، ۱۵۲
 کینتو کور.....د، ۲، ۶، ۱۰

گ

گیاهان گلداری ۱۲۷، ۱۴۳، ۲۸۵، ۲۸۶، ۲۸۷،
 ۲۹۰، ۲۹۱

ل

لوسمی ترکیبی ۱.....۸۷
 لیزین دمتیلازا.....۸۲، ۸۷، ۲۷۰، ۲۷۱، ۲۷۲

م

متیلاسیون DNA خ، ذ، ۱۸، ۱۹، ۲۰، ۲۱، ۲۲،
 ۲۳، ۲۴، ۲۵، ۲۶، ۲۷، ۲۸، ۲۹، ۳۱، ۴۰،
 ۶۱، ۸۵، ۸۶، ۱۱۳، ۱۳۳، ۱۳۵، ۱۳۶، ۱۳۷،
 ۱۳۸، ۱۳۹، ۱۴۰، ۱۴۷، ۱۴۸، ۱۴۹، ۱۵۰، ۱۵۱،
 ۱۵۴، ۱۵۹، ۱۶۰، ۱۶۴، ۱۶۷، ۱۷۰، ۱۷۱،
 ۱۷۳، ۱۷۴، ۱۷۶، ۱۷۷، ۱۷۹، ۲۰۱، ۲۰۲،
 ۲۰۴، ۲۰۹، ۲۱۰، ۲۱۱، ۲۱۲، ۲۱۳، ۲۱۴، ۲۱۵،

نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید ۲۵۵، ۲۵۶،

۲۷۳

و

وراثت بین نسلی ۸۵

ه

هرمافرودیت ها ۹۳، ۹۶، ۹۷، ۱۱۸، ۱۱۹، ۱۲۱

هماندسازی DNA، ۱۷، ۱۹، ۳۱، ۴۰، ۵۲،

۵۶، ۶۰، ۶۱، ۷۹، ۲۲۰، ۲۲۲، ۲۴۲

همسرکوب ۱۶۰

هیپرمتیلاسیون ۲۷۸

هیپومتیلاسیون ۱۴۶، ۱۴۷، ۲۱۰، ۲۱۲، ۲۱۶،

۲۴۲، ۲۶۸، ۲۷۲

هیستون ج، خ، ۲، ۴، ۵، ۶، ۷، ۸، ۹، ۱۰، ۱۱،

۱۳، ۱۴، ۱۵، ۱۶، ۱۷، ۲۲، ۲۸، ۳۱، ۳۶، ۳۹،

۴۰، ۴۱، ۴۲، ۴۹، ۵۲، ۵۴، ۵۶، ۵۷، ۵۹،

۶۰، ۶۱، ۶۹، ۷۰، ۷۴، ۷۷، ۷۸، ۷۹، ۸۲،

۸۴، ۸۶، ۸۷، ۹۹، ۱۰۷، ۱۰۸، ۱۰۹، ۱۱۲، ۱۱۹،

۱۳۴، ۱۴۰، ۱۴۹، ۱۵۰، ۱۵۹، ۱۷۲، ۱۹۹، ۲۱۰،

۲۱۳، ۲۱۷، ۲۲۱، ۲۲۳، ۲۲۴، ۲۲۶، ۲۲۷،

۲۲۸، ۲۳۰، ۲۳۲، ۲۳۳، ۲۳۴، ۲۳۶، ۲۴۲،

۲۵۱، ۲۵۳، ۲۵۴، ۲۵۶، ۲۶۰، ۲۶۱، ۲۶۲،

۲۶۴، ۲۶۵، ۲۶۷، ۲۶۸، ۲۷۰، ۲۷۱، ۲۷۲،

۲۷۳، ۲۷۵، ۲۷۶، ۲۷۷، ۲۷۹، ۲۸۶،

۲۸۸، ۲۹۰، ۲۹۲

هیستون استیل ترانسفراز ۹۹

هیستون متیلازها ۱۵

هیستون یوبی کوئیتین ترانسفراز ۱۵

هیستون داستیلاز ۸۱، ۱۰۹، ۱۷۲، ۲۳۴، ۲۳۵،

۲۳۶، ۲۴۰

هیستون دمتیلاز ۲۲۸

هیستون متیل ترانسفراز ۱۴۳

University of Guilan Press

Introduction to Epigenetics

By:

Renato Paro
Ueli Grossniklaus
Raffaella Santoro
Anton Wutz

Translated by:

Hassan Hassani Kumleh, Ph. D