

# Lezione XVII-XVIII

martedì 15-XI-2011

corso di genomica

Laurea Magistrale Biotecnologia Industriale

aula 8

orario : Martedì ore 14.00 - 16.00

Giovedì ore 13.00 - 15.00

libro consigliato Zanichelli “Introduz. Alla genomica” di  
Arthur M.Lesk

D. Frezza

# dynamic architecture of Hox clusters

Daan Noordermeer, Marion Leleu, Erik Splinter, Jaques Rougemont, Wouter de Laat, Denis Duboule

Science vol 334, 14 Ottobre 2011

1494

Tornano di moda i geni Hox

Studi precedenti di espressione in cellule ES e su tessuto tramite analisi *in situ*, determinazione dei somiti.

Mai trovati i meccanismi a valle, sono determinanti di passaggi ancora sconosciuti della regolazione genomica, adesso arrivano i primi spiragli.

# nuove evidenze intrecciate

A long noncoding RNA maintains active chromatin to coordinate homeotic gene expression.

Wang KC, Yang YW, Liu B, Sanyal A et al. Chang HY.

Nature. 2011 Apr 7;472(7341):120-4. Epub 2011 Mar 20.

The genome is extensively transcribed into long intergenic noncoding RNAs (lincRNAs), many of which are implicated in gene silencing. Potential roles of lincRNAs in gene activation are much less understood. Development and homeostasis require coordinate regulation of neighbouring genes through a process termed locus control. Some locus control elements and enhancers transcribe lincRNAs, hinting at possible roles in long-range control. In vertebrates, 39 Hox genes, encoding homeodomain transcription factors critical for positional identity, are clustered in four chromosomal loci; the Hox genes are expressed in nested anterior-posterior and proximal-distal patterns colinear with their genomic position from 3' to 5' of the cluster. Here we identify HOTTIP, a lincRNA transcribed from the 5' tip of the HOXA locus that coordinates the activation of several 5' HOXA genes in vivo. Chromosomal looping brings HOTTIP into close proximity to its target genes. HOTTIP RNA binds the adaptor protein WDR5 directly and targets WDR5/MLL complexes across HOXA, driving histone H3 lysine 4 trimethylation and gene transcription. Induced proximity is necessary and sufficient for HOTTIP RNA activation of its target genes. Thus, by serving as key intermediates that transmit information from higher order chromosomal looping into chromatin modifications, lincRNAs may organize chromatin domains to coordinate long-range gene activation.

# Nuove evidenze di controllo genomico

Il genoma è trascritto in lunghi RNAs intergenici non codificanti molti dei quali sono implicati nel silenziamento dei geni. I ruoli potenziali dei lincRNAs nell'attivazione genica non sono compresi.

Lo sviluppo e l'omeostasi richiedono una regolazione coordinata dei geni vicini tramite un processo chiamato controllo del locus. Alcuni elementi del "locus control" ed enhancers trascrivono "lincRNAs" suggerendo un controllo a lunga distanza. Nei vertebrati 39 geni Hox che codificano per fattori di trascrizione con "omeodominio" elix-turn-elix con una identità di posizione critica sono raccolti in 4 clusters. I geni Hox sono espressi con pattern legato antero-posteriore e prossimale distale colinearmente con la loro posizione genomica dal 3' al 5' del cluster.

HOTTIP lincRNA trascritto dal 5' del locus HOXA coordina l'attivazione di diversi geni al 5' di HOXA in vivo. Il "looping" (avvolgimento) porta HOTTIP in stretta vicinanza dei geni bersaglio. HOTTIP RNA lega la proteina adattatrice WDR5 direttamente e porta complessi WDR5/MLL attraverso HOXA, inducendo la trimetilazione di lysina4 dell'istone H3 e la trascrizione. Indurre la vicinanza è necessaria e sufficiente per l'attivazione tramite HOTTIP RNA dei geni target. Utilizzati come intermediari chiave che trasmettono l'informazione da un ordine gerarchico più alto di "looping cromosomico" alle modificazioni della cromatina, i lincRNA possono organizzare i domini di cromatina per attivazione a grande distanza "long-range".

# Spatial and temporal Hox genes control

The spatial and temporal control of Hox gene transcription is essential for patterning the vertebrate body axis. Although this process involves changes in histone posttranslational modifications, the existence of particular three-dimensional (3D) architectures remained to be assessed *in vivo*. Using high-resolution chromatin conformation capture methodology, we examined the spatial configuration of Hox clusters in embryonic mouse tissues where different Hox genes are active. When the cluster is transcriptionally inactive, Hox genes associate into a single 3D structure delimited from flanking regions. Once transcription starts, Hox clusters switch to a bimodal 3D organization where newly activated genes progressively cluster into a transcriptionally active compartment. This transition in spatial configurations coincides with the dynamics of chromatin marks, which label the progression of the gene clusters from a negative to a positive transcription status. This spatial compartmentalization may be key to process the colinear activation of these compact gene clusters.

# Abstract: Hox gene cluster architecture

I geni Hox di nuovo in primo piano! Forse si capirà come funzionano grazie alla genomica. Sono organizzatori genomici.

Il controllo spaziale e temporale della trascrizione dei geni *Hox* è essenziale per determinare l'asse corporeo dei vertebrati.

Questo processo implica i cambiamenti post-trascrizionali degli istoni, ma l'esistenza di architetture 3D deve ancora essere stabilito in vivo.

Con l'uso della “high-resolution chromatin conformational capture methodology” abbiamo studiato la configurazione spaziale dei clusters Hox nei tessuti di topo dove sono attivi diversi geni hox. Quando il cluster è trascrizionalmente inattivo, i geni *Hox* si associano in singole strutture 3D delimitate dalle regioni fiancheggianti. Quando parte la trascrizione, i clusters Hox si organizzano in una struttura 3D bimodale, dove i geni appena attivati si raggruppano progressivamente in un compartimento trascrizionale attivo. Questa transizione di configurazione spaziale coincide con le dinamiche di marcatori di cromatina, che marca la progressione dei clusters genici da inattivi ad attivi. La compartimentazione spaziale sarà la chiave per l'attivazione colineare di questi clusters compatti.

# attivazione colineare con l'asse corporeo

Tutto è iniziato grazie ai mutanti di drosofila

The homeodomain is a 60 amino acid long DNA-binding domain (encoded by the homeobox on the DNA). This amino acid sequence folds into a helix-turn-helix motif that is stabilized by a third helix.

Durante lo sviluppo i geni Hox sono attivati in sequenza in relazione alla posizione lungo i 4 clusters genomici da *HoxA* ad *HoxD*. Come risultato di questo processo si ha la distribuzione dei trascritti lungo l'asse rostro-caudale. Questo processo di attivazione colineare è essenziale per l'organizzazione del piano corporeo. A questo processo dinamico si accompagna un cambiamento dinamico del microambiente della cromatina dell'istone H3K27me3 da uno stato represso ad uno permissivo dell'istone H3K4me3.

Cambiamenti di ordine superiore della cromatina accompagnano la trascrizione di geni importanti dello sviluppo e l'organizzazione 3D del cluster *HoxA* cambia dopo l'attivazione genica in cellule di mammifero in vitro. I cluster *Hox B* e *D* prendono una forma decondensata con l'attivazione e la modifica del complesso repressivo 1 Polycomb.

## studio in vivo (ecco la novità)

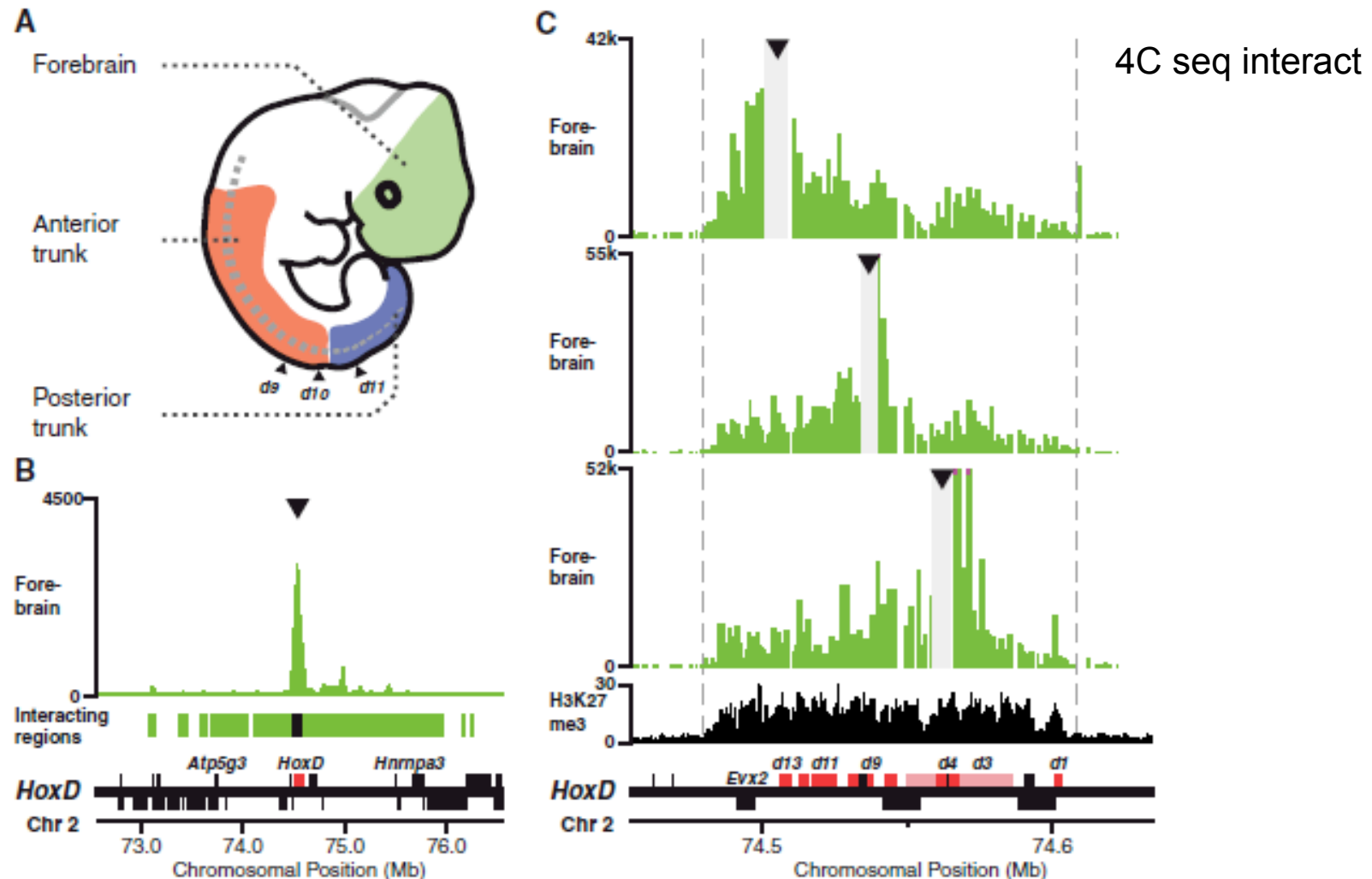
Abbiamo studiato l'architettura di questi loci genomici nei tessuti embrionali a diversi stadi dell'attivazione della trascrizione colineare e descrive uno stato bimodale dove i geni attivi ed inattivi stanno in domini 3D distinti. I geni progressivamente allentano le loro interazioni col dominio repressivo per associarsi con una struttura attiva (TF).

abbiamo usato microarray di espressione genica in tre tessuti del giorno 10.5 di sviluppo embrionale:

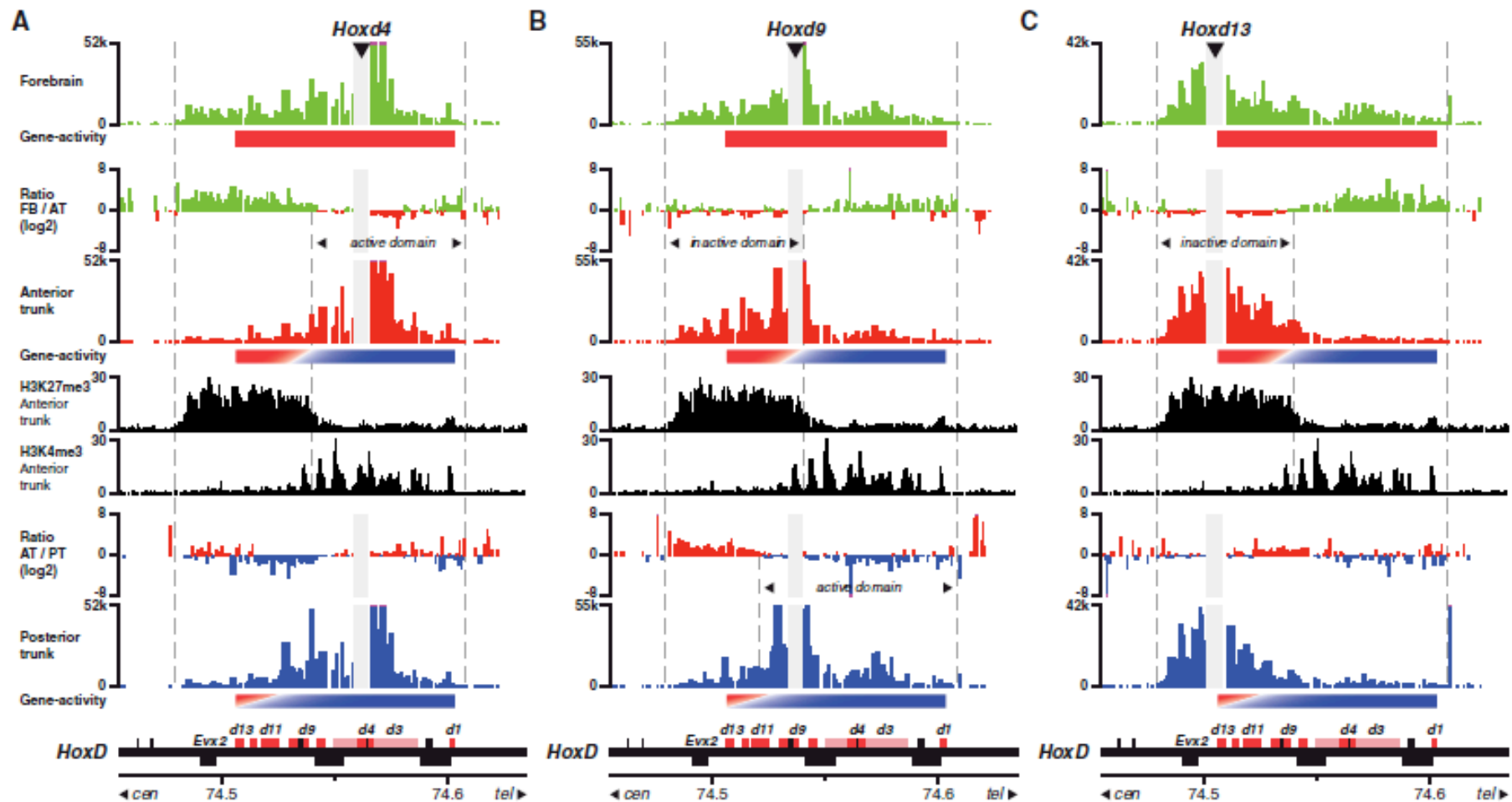
Anterior dorsal trunk (upper forelimb to upper hindlimb)

Posterior dorsal trunk (upper forelimb to tailbud) and forebrain cells. L'ultimo tipo di cellule non esprimono geni Hox usate come controllo negativo.

# Espressione del cluster Hoxd



# Organizzazione ed espressione



# schema 3D ed espressione colineare

