Long Non-Coding RNA i Regulació Epigenètica; El Paper de Xist en el Procés d'Inactivació del Cromosoma X

Universitat Autònoma de Barcelona

Autor:
Estefania Ballesteros Cuerda
Tutor: Néstor Gómez
Grau en Bioquímica

INTRODUCCIÓ

- L'**Epigenètica** regula l'expressió gènica dirigint la transcripció i la reorganització de la cromatina.
- Modifica químicament el DNA sense alterar la seva seqüència. Les marques químiques es mantenen a través de les divisions cel·lulars.
- Els ***Long Non-Coding* RNAs** (lncRNAs) són elements clau en la regulació epigenètica.
- ***Xist*** és un lncRNA que dirigeix el **Procés d'Inactivació del Cromosoma X** (XCI), mecanisme de compensació de dosi gènica en femelles de mamífer.
- XCI és un cas extrem de regulació epigenètica i per tant un bon model per a l'estudi dels mecanismes dels lncRNAs en la regulació epigenètica.

OBJECTIUS

- Descriure els *Long Non-Coding* RNAs i revisar el seu paper en els processos epigenètics, en concret en la Inactivació del Cromosoma X.
- Contextualitzar XCI.
- Establir les etapes que es donen durant XCI i descriure els elements que hi participen i la regulació els processos.

MÈTODE

- Recerca bibliogràfica d'articles i publicacions científiques actuals.
- Paraules clau lncRNAs, *Xist*, XCI.

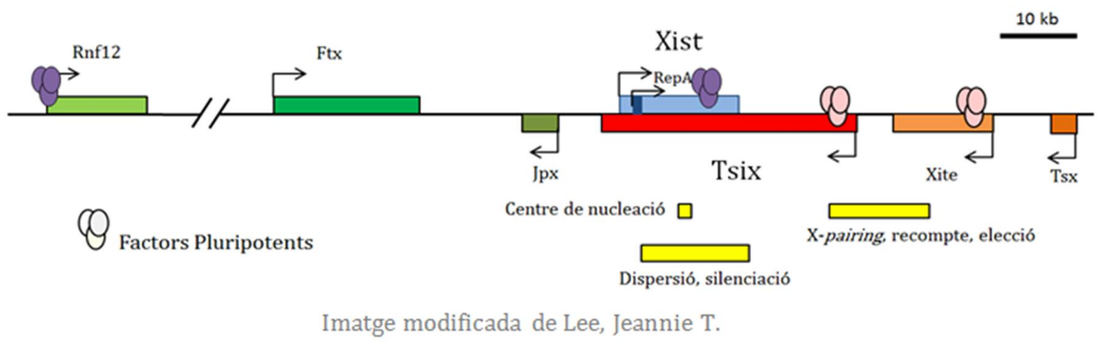
LONG NON-CODING RNAs

- Són RNAs no codificants que tenen funcions pròpies.
- És processen per *splicing* i es localitzen al nucli nuclear.
- Longituds superiors als 200 nucleòtids.
- Expressió molt regulada i específica de teixit.
- Adopten estructures secundàries: actuen com a *scaffolds*, guies, *decoys* o senyalitzadors.
- Actuen en *cis* i en *trans.*

XIST (X *Inactive Specific Transcrit)*

- Longitud 17kb. 7 dominis de repetició en tàndem (A-F).
- Funció *scaffold* i guia.
- Expressat específicament des del cromosoma X inactivat (Xi), el recobreix en *cis* i dirigeix la seva silenciació.

EL CENTRE D'INACTIVACIÓ DEL CROMOSOMA X (XIC)



Imatge modificada de Lee, Jeannie T.

Figura 1. Locus XIC i elements necessaris per a la regulació de XCI,

- La majoria són ncRNAs.
- Al centre resideix el gen XIST i la seva unitat *antisense* Tsix.
- En colors verd i taronja es representen els elements reguladors positius de Xist i Tsix, respectivament. Tsix és un repressor de Xist.
- Es mostren els llocs d'unió dels FP: els liles indiquen bloqueig de la transcripció; els roses, potenciació.
- RNF12 és un gen codificant localitzat 500kb *upstream* a Xist.
- Les barres grogues indiquen regions implicades en les diferents etapes de XCI.

XCI I EMBRIOGENÈSI

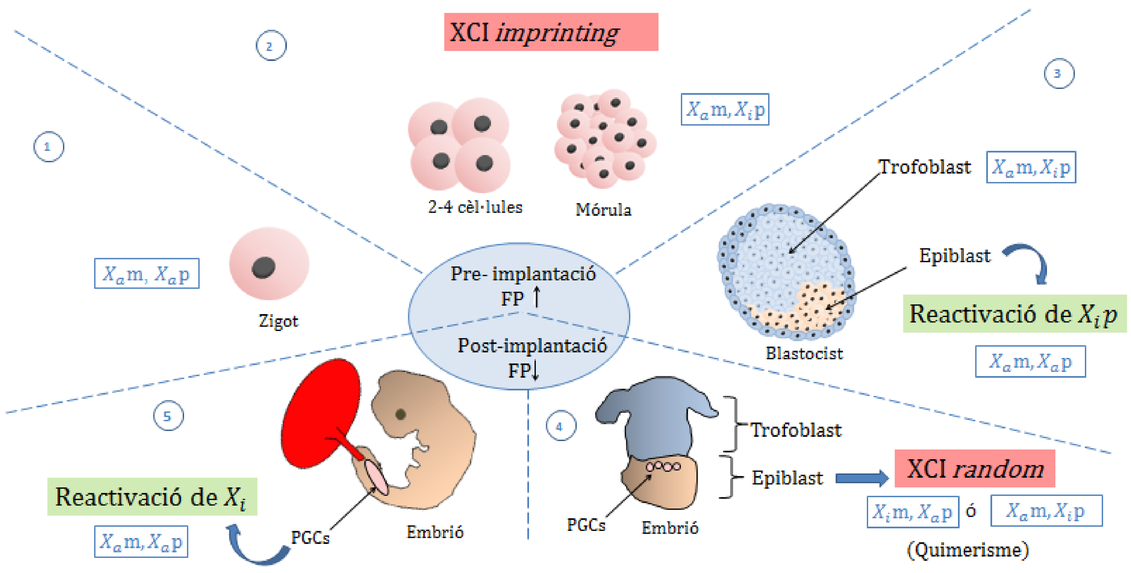
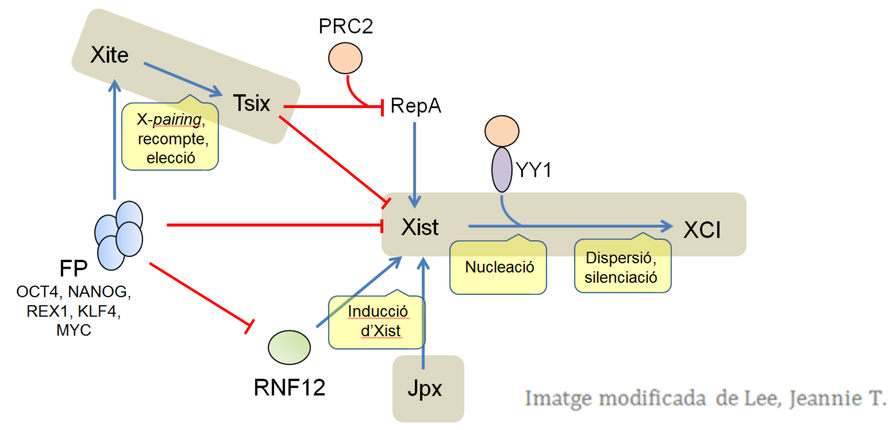


Figura 2. Cicle d'inactivació i reactivació del cromosoma X durant el desenvolupament embrionari.

- Els mecanismes d'XCI per *imprinting* i *random* són diferents.
- XCI *random* coincideix amb l'inici de la diferenciació i la implantació a l'úter. És un estat inactiu estable.
- Els teixits que deriven del trofoblast (teixits extraembrionaris) mantenen $X_i p$.
- Els teixits que deriven de l'epiblast (embrió), són quimera per X_i
- Les PGC reactiven X_i assegurant la totipotencialitat dels gàmetes.

Xa, Xi, Xm, Xp, cromosoma X actiu, inactiu, matern i patern, respectivament; PCG, Cèl·lules Germinals Primordials; FP, Factors Pluripotents.

XCI: ETAPES



Imatge modificada de Lee, Jeannie T.

Figura 3. Esquema de la regulació de XCI i elements implicats en cada etapa.

X-*PAIRING*, RECOMPTE I ELECCIÓ

- Nivells alts de FP activen la transcripció de Tsix i bloquegen l'expressió d'Xist.
- Recompte del número de cromosomes X segons ratio X:A >1 ; Xi = n-1
- L' X-*pairing* permet la distribució asimètrica de FT i la determinació X_i *i* X_a.

FP, factors pluripotents; X, factors lligats al cromosoma X; A, factors autosòmics; n, número de cromosomes X totals

INDUCCIÓ D'XIST

- Amb l'inici de la diferenciació cel·lular disminueixen nivells FP i Tsix és silenciat; es transcriu Xist.
- S'exclou la maquinària de transcripció creant un compartiment de silenciació.
- Reclutament dels *Polycomb Repressive Group*, PCR2 i PCR1, implicades en la formació de l'heterocromatina facultativa.

NUCLEACIÓ I DISPERSIÓ

- Factor YY1 uneix Xist al centre de nucleació.
- Els elements LINE són 'estacions de direcció' que faciliten la dispersió de Xist i el plegament del cromosoma.

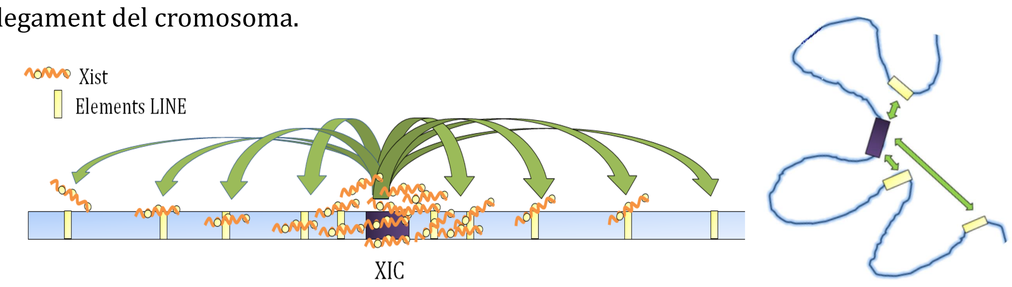


Figura 4. Model de dispersió de Xist (esquerre) i de plegament del cromosoma X (dreta).

SILENCIACIÓ

Taula 1. Característiques del compartiment de silenciació

Característiques	Descripció
Increment de PcG	• PCR2 • PCR1
Modificacions (marques d'heterocromatina facultativa)	• K3K27me3 (per PCR2) i H3K9me • H2A119ub (per PCR1) • H4 hipoacetilació (per HDAC) • Metilació illes CpG (per DNMT1 i DNMT3)
Histones	• Exclusió H2A • Incorporació macroH2A • Increment H1
Altres proteïnes	• SAF-A • SATB1
Altres	• Desplaçament del cromosoma a la perifèria nuclear • Replicació tardana a la fase S

CONCLUSIONS

- XCI és regulat per diversos ncRNAs i dirigit pel lncRNA Xist; durant el procés d'inactivació es regula la transcripció, es recluten remodeladors de la cromatina i es crea un subcompartiment silenciat al nucli.
- Els lncRNAs juguen un paper directe en la regulació de l'expressió gènica.
- Dels ~20.000 identificats fins ara, només s'han caracteritzat una petita part. És necessari continuar fent recerca bàsica en lncRNAs, ja que podria resoldre incògnites respecte la regulació gènica.

BIBLIOGRAFIA

- Gendrel, Anne-Valerie, and Edith Heard. "**Noncoding RNAs and epigenetic mechanisms during X-Chromosome inactivation.**" *Annual review of cell and developmental biology* 30 (2014): 561-580.
- Lee, Jeannie T. "**Gracefully ageing at 50, X-chromosome inactivation becomes a paradigm for RNA and chromatin control.**" Nature reviews Molecular cell biology 12.12 (2011): 815-826.
- Augui, Sandrine, Elphège P. Nora, and Edith Heard. "**Regulation of X-chromosome inactivation by the X-inactivation centre.**" Nature Reviews Genetics 12.6 (2011): 429-442.
- Figures 2 i 4: creació pròpia.