

HISTONY TYPU H1 U ROŚLIN – NIEOCZEKIWANE FUNKCJE UNIWERSALNYCH ELEMENTÓW SYSTEMU EPIGENETYCZNEGO

H1 HISTONES IN PLANTS – UNEXPECTED FUNCTIONS
OF UNIVERSAL ELEMENTS OF THE EPIGENETIC SYSTEM

Andrzej JERZMANOWSKI

Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego i Instytut Biochemii i Biofizyki
PAN, Warszawa

Streszczenie: Histony H1 u roślin wyższych wykazują wszystkie typowe cechy tej klasy białek strukturalnych chromatyny i, podobnie jak u zwierząt, występują w chromatynie w postaci różniących się nieallelicznych wariantów. Ze względu na znacznie prostszą niż u zwierząt budowę i mniejszą liczbę wariantów, rośliny, w szczególności *Arabidopsis thaliana*, są wyjątkowo dogodnym modelem do badania uniwersalnych mechanizmów leżących u podłoża funkcji biologicznej H1 w złożonych organizmach tkankowych. Wyniki dotychczasowych prac wskazują, że u roślin H1, obok roli w modulacji aktywności transkrypcyjnej genów i architekturze chromosomów, może stanowić łącznik zapewniający koordynację między procesami chromatynowymi a przekształceniami mikrotubul w komórce. Wyniki ostatnich, globalnych analiz rozmieszczenia nukleosomów na DNA wskazują także, że brak obecnego w H1 zwierząt pentapetydu GXGAX w kluczowym dla oddziaływań z DNA motywie strukturalnym domeny globularnej roślinnych H1 może być jedną z przyczyn większej plastyczności rozwojowej komórek roślin.

Słowa kluczowe: histon H1, rośliny, mikrotubule, plastyczność rozwojowa.

Summary: Histone H1 proteins of angiosperm plants have all the features of evolutionarily-conserved linker histones and, as in animals, they occur in chromatin as different non-allelic variants. Due to much simpler organization of plants compared to animals, plants and in particular *Arabidopsis thaliana*, are uniquely suitable for studying universal mechanisms underlying the biological function of H1 in complex multicellular eukaryotes. The results of recent studies indicate that H1 in plants, in addition to role in modulation of transcriptional activity and chromosomal architecture, could act as coordinator of chromatin and microtubular processes. The recent analyses of global distribution patterns of nucleosomes along DNA also indicate that the lack in plant H1 of a pentapeptide GXGAX that is strongly conserved in animals, could be one of the causes of increased developmental plasticity of plant cells.

Key words: histone H1, plants, microtubules, developmental plasticity.

CHROMATYNA – STRUKTURALNE PODŁOŻE SYSTEMU EPIGENETYCZNEGO

Chromatyna, to potoczna nazwa kompleksu nukleoproteidowego występującego w komórkach organizmów eukariotycznych i zawierającego całość jądrowego DNA. Podstawową jednostką strukturalną chromatyny jest nukleosom. Tworzy go białkowy rdzeń złożony z 8 cząsteczek histonów rdzeniowych (po dwie każdego z czterech rodzajów, tj. H3, H4, H2A i H2B) i owinięty wokół tego rdzenia odcinek DNA od długości od 170 do 220 par zasad. Z samym rdzeniem ściśle oddziałuje tylko około 147 par zasad DNA, pozostała część nukleosomowego DNA to tak zwany łącznik – krótki odcinek przebiegający między sąsiadującymi nukleosomami, który w zależności od gatunku i tkanki może liczyć od 20 do 70 par zasad. Bezpośrednie oddziaływania DNA z histonami w nukleosomie, a także, stanowiące konsekwencję tych oddziaływań, zwijanie się włókna nukleosomowego w struktury przestrzenne wyższego rzędu, poważnie ograniczają dostęp różnych białek do DNA [28]. Ten represyjny w stosunku do DNA efekt chromatyny powoduje, że jest ona miejscem działania rozmaitych mechanizmów regulacyjnych, których podstawową funkcją jest modulacja dostępności DNA. Większość z tych mechanizmów pośredniczy w ustanawianiu konkretnych wzorów aktywności DNA, które mogą być następnie dziedziczone mitotycznie, a u niektórych organizmów także mejotycznie. Mamy tu zatem do czynienia z systemem umożliwiającym dziedziczenie zmian w profilu transkrypcyjnym komórek bez wprowadzania zmian w sekwencji DNA. System ten nosi nazwę epigenetycznego. Bez jego wykształcenia się w trakcie ewolucji niemożliwe byłoby powstanie organizmów wielokomórkowych, wymagających utrzymywania w kolejnych pokoleniach zróżnicowanych komórek wzoru specyficznej tkankowo ekspresji genów. Najważniejsze mechanizmy systemu epigenetycznego to: 1) modyfikacje potranslacyjne nieustrukturalizowanych ogonów histonów rdzeniowych; 2) wymiana wariantów histonów rdzeniowych w nukleosomach; 3) przebudowa (ang. *remodeling*) nukleosomów z udziałem kompleksów białkowych wykorzystujących energię hydrolizy ATP i 4) metylacja cytozyn w DNA (ten mechanizm występuje głównie u ssaków i roślin kwiatowych). Bardzo ważnym elementem systemu epigenetycznego są małe interferujące RNA. W wielu przypadkach inicjują one zmiany chromatynowe w miejscach, w których występują konkretne sekwencje DNA.

HISTONY H1 (ŁĄCZNIKOWE) BUDOWA I LOKALIZACJA W CHROMATYNIE

Histony typu H1, zwane także łącznikowymi, są powszechnym i uniwersalnym składnikiem chromosomów organizmów eukariotycznych [9]. Wbrew nazwie, zbudowane są inaczej niż histony rdzeniowe. Zawierają konserwowaną ewolucyjnie część globularną (GH1) i dwa nieustrukturalizowane, silnie dodatnio naładowane ogony: krótszy N-końcowy i dłuższy, liczący u niektórych wariantów ponad 100

aminokwasów, C-końcowy. Histony H1 wyróżniają się spośród pozostałych histonów nukleosomowych największą zmiennością. U organizmów eukariotycznych opisano liczne warianty H1 występujące w tych samych komórkach, a także związane z charakterystycznymi tkankami bądź stadiami rozwojowymi [6]. H1 wiąże się na zewnątrz cząstki rdzeniowej nukleosomu złożonej z histonów rdzeniowych i DNA, w taki sposób, że stabilizuje końce DNA nukleosomowego, które w obecności H1 ułożone są po tej samej stronie nukleosomu. Część globularna H1 ma dwa miejsca wiązania do DNA i lokuje się nieco asymetrycznie w stosunku do pseudo osi symetrii nukleosomu [29]. Obecność H1 chroni dodatkowe 20 par zasad DNA (w dodatku do 147 par zasad chronionych przez oddziaływanie z cząstką rdzeniową) przed trawieniem nukleazą. Krytyczne w stosunku do orientacji DNA na nukleosomie umiejscowienie H1 sprawia, że histon ten powinien teoretycznie odgrywać bardzo istotną rolę w określaniu geometrii wszystkich wyższego rzędu struktur przestrzennych chromatyny. W szczególności, od obecności H1 powinna krytycznie zależeć regularność struktur wyższego rzędu, a także średni stopień zwinięcia przypadający na jednostkę długości [28]. Zastosowanie metody FRAP (ang. *Fluorescence Recovery After Photo-bleaching*) pozwoliło wykazać, że *in vivo* H1, w odróżnieniu od histonów rdzeniowych, bardzo szybko wymienia się w chromatynie [1, 15, 16]. Średni czas przebywania cząsteczki H1 w miejscu wiązania wynosi kilka minut, podczas gdy dla histonów rdzeniowych czas ten wynosi wiele godzin.

BIOLOGICZNA FUNKCJA HISTONU H1

Ze względu na powszechność występowania H1 w chromatynie, problem jego roli biologicznej wygodnie jest rozpatrywać z dwóch perspektyw: a) roli globalnej i b) roli specyficznej.

Podstawowym podejściem w analizie roli globalnej jest badanie fenotypów organizmów, u których w możliwie maksymalny sposób zahamowano wyrażanie się genów kodujących H1. Skuteczne wyłączenie genów H1 u jednokomórkowych *Protista* i grzybów wykazało, ku zaskoczeniu badaczy, że H1 nie jest u tych organizmów białkiem krytycznym dla przeżycia. Nie oznacza to bynajmniej, że H1 jest zbędny dla przeżycia złożonych organizmów wielokomórkowych. Myszy pozbawione 3 głównych wariantów somatycznych H1 (otrzymane w wyniku krzyżowania różnych linii *knockoutowych*), w których poziom całkowitego H1 został obniżony o prawie 50%, umierały w 10 dniu rozwoju zarodka, co dowodzi, że histony łącznikowe są niezbędne dla prawidłowego rozwoju ssaków [3]. Pierwsze dane wskazujące na możliwą globalną rolę H1 u organizmów wielokomórkowych uzyskano dla roślin. Obniżenie o ponad 90% poziomu transkrypcji wszystkich trzech wariantów H1 w *Arabidopsis thaliana* spowodowało wystąpienie plejotropowych fenotypów rozwojowych [27]. Były one skorelowane ze stochastycznie występującymi zmianami w wzorze metylacji genomowego DNA. Analiza genetyczna i molekularna kolejnych pokoleń roślin z drastycznie obniżonym poziomem H1 pozwoliła na następującą interpretację tych wyników: Pierwotne obniżenie poziomu H1 poniżej pewnej

krytycznej wartości spowodowało zakłócenie regularności wyższego rzędu struktur chromatynowych. To z kolei pociągnęło za sobą stochastyczne zmiany w dostępności określonych sekwencji DNA dla systemu odpowiedzialnego za ich metylację. U roślin wzór metylacji DNA dziedziczy się z pokolenia na pokolenie (mejotycznie). Efektem pierwotnej utraty precyzji wprowadzania tej modyfikacji DNA u roślin z obniżonym H1 były więc dziedziczne zmiany wzoru metylacji pojawiające się w kolejnych pokoleniach oraz będące ich konsekwencją zmiany fenotypowe. Oba rodzaje zmian mogły występować także u tych roślin, u których poziom H1 powrócił do stanu pierwotnego. Powyższe doświadczenia na *Arabidopsis* ujawniły po raz pierwszy nieznaną przedtem związek między histonami H1 a wzorem metylacji genomowego DNA. Co ciekawe, również u ssaków zaobserwowano podobny związek między obniżeniem poziomu H1 a metylacją specyficznych sekwencji DNA [3]. Świadczy to, że jedną z uniwersalnych globalnych funkcji H1 u złożonych organizmów wielokomórkowych może być utrzymywanie precyzji epigenetycznego znakowania chromatyny, w tym poprzez metylację DNA.

Dotychczasowe badania wskazują, że H1 pełni także w komórkach rolę specyficznego regulatora genów [12]. Analiza mikromacierzowa wykazała, że wyłączenie genów kodujących różne warianty H1 w komórkach ssaków powoduje zróżnicowane, charakterystyczne dla poszczególnych wariantów, zmiany w ekspresji genów [23]. W innych doświadczeniach na ssakach wykazano, że somatyczny wariant H1.5 współdziała z czynnikiem transkrypcyjnym MSX1 w regulacji ekspresji genów odpowiedzialnych za powstawanie tkanki mięśniowej [14]. Deacetylacja lizyny 26 wariantu H1.4 przez białko SirT1, a następnie jej metylacja umożliwia przyłączenie w tym miejscu chromatyny kompleksu Polycomb i białka HP1 (*Heterochromatin Protein 1*). Jednoczesna fosforylacja seryny 27 w H1.4 blokuje natomiast przyłączenie białka HP1 [26]. Z kolei wariant H1.2 występuje w kompleksie odpowiedzialnym za represję transkrypcji zależną od białka p53 [13].

U roślin badania nad właściwościami molekularnymi i funkcją wariantów H1 są mniej zaawansowane niż u zwierząt. Analiza filogenetyczna sekwencji H1 roślin kwiatowych pokazuje, że obok podstawowej grupy zróżnicowanych wariantów tych białek, istnieje wyraźnie wydzielona odrębna gałąź grupująca warianty o charakterystycznej modyfikacji w części globularnej (GH1) [8]. Ponieważ transkrypcja genów kodujących te warianty ulega indukcji pod wpływem stresów lub traktowania hormonem ABA, nazwano je wariantami stresowymi H1. Reprezentantem wariantów stresowych u *Arabidopsis* jest H1-3, który znajduje się w tej roślinie obok tzw. wariantów głównych lub somatycznych: H1-1 i H1-2. U tytoniu, u którego występuje sześć wariantów H1, do grupy stresowych należą H1C i H1D [19, 20, 21]. Warianty somatyczne to H1A, H1B (główne) oraz H1E i H1F (poboczne). W trakcie ewolucji roślin kwiatowych wydzielenie się gałęzi wariantów stresowych nastąpiło jeszcze przed rozdzieleniem się jedno- i dwuliściennych, jest więc wydarzeniem relatywnie wczesnym. Bardzo interesującą regularność ujawnia porównanie H1 z roślin i zwierząt. Histony H1 z roślin nie mają krótkiego silnie konserwowanego u zwierząt pentapeptydu GXGAX zlokalizowanego na szczycie tak zwanego 'skrzydełka' (ang. *wing*), charakterystycznego motywu w strukturze części globularnej. Jak wykazano,

obecność lub brak tego elementu różnicuje H1 roślin i zwierząt równie dobrze, jak porównanie (ang. *alignment*) całych sekwencji GH1 [11].

Jeśli idzie o specyficzne funkcje wariantów H1 u roślin, oprócz wspomnianej indukcji transkrypcyjnej wariantów stresowych w warunkach stresów abiotycznych i pod wpływem ABA, zaobserwowano także charakterystyczne defekty związane ze zmianą proporcji poszczególnych wariantów. Zastosowanie strategii antysensu w stosunku do głównych wariantów H1 w tytoniu pozwoliło na skonstruowanie roślin, w których fizjologiczna proporcja głównych (H1A, H1B) do stresowych i pobocznych (H1C, H1D, H1E i H1F) wariantów H1 została odwrócona. Mimo że nie miało to wpływu na wzrost i rozwój tytoniu, doprowadziło jednak do silnych zaburzeń w męskiej gametogenezie i ostatecznie męskiej sterility uzyskanych roślin [19]. Szczegółowa analiza fenotypowa zmienionych roślin wykazała, że prawdopodobną przyczyną zaburzeń w gametogenezie było nieprawidłowe parowanie i rozchodzenie się chromosomów w trakcie mejozy [19]. Potwierdza to znacznie prawidłowej stechiometrii wariantów dla zachowania stabilności i regularności chromatynowych struktur wyższego rzędu, co ma kluczowe znaczenie dla rozpoznawania się chromosomów homologicznych w trakcie rekombinacji oraz podziałów mejotycznych.

CZY EWOLUCJA H1 MA ZWIĄZEK Z PLASTYCZNOŚCIĄ ROZWOJOWĄ ROŚLIN?

Jak wspomniano powyżej, H1 z roślin różni się od H1 zwierząt przede wszystkim brakiem silnie konserwowanego u tych ostatnich, pięcioaminokwasowego fragmentu GXGAX, zlokalizowanego na szczycie charakterystycznego 'skrzydełka' w domenie globularnej. Czy delecja kilkunastu zasad z DNA kodującego GH1 u roślin miała znaczenie przystosowawcze, czy też była typowym wypadkiem mutacyjnym, który nie pociągnął za sobą konsekwencji funkcjonalnych, ale został utrwalony w linii ewolucyjnej prowadzącej do roślin? Ze względu na kluczową pozycję dla wiązania H1 do nukleosomu, jaką w strukturze GH1 zajmuje rejon skrzydełka, obejmujący wskazaną delecję, postulowano, że brak peptydu GXGAX w H1 u roślin w istotny sposób osłabia i zmienia sposób wiązania H1 do nukleosomu, co w konsekwencji pociąga za sobą daleko idące zmiany w regularności i stabilności wyższego rzędu struktur chromatynowych [10, 11]. W szczególności, struktury te mogą być u roślin mniej zwarte i słabiej blokujące dostęp do DNA niż u zwierząt. Jak wiadomo, zróżnicowane komórki roślin dużo łatwiej odróżnicowują do stanu quasi-embryonalnego niż zróżnicowane komórki zwierząt. Być może, zwiększona plastyczność chromatyny u roślin ma związek ze zmienioną na skutek odmiennego oddziaływania H1 organizacją podstawowego włókna nukleosomowego. Ostatnio wykazano, że u drożdży i u zwierząt pozycja nukleosomów na DNA zależy przede wszystkim od sekwencji nukleotydowej [2]. Analiza rozkładu nukleosomów u zwierząt pokazała, że na końcach fragmentów DNA owiniętych wokół cząstek rdzeniowych pojawia się regularnie sekwencja silnie wzbogacona w pary AT. Najwyraźniej, istniała stała

presja selekcyjna, która konserwowała ten, a nie inny rozkład sekwencji AT-bogaty. Histony H1 wykazują wydatną preferencję właśnie w stosunku do sekwencji AT-bogaty, z którymi oddziałują znacznie silniej niż z innymi sekwencjami [7,24,25]. Modelowanie sposobu wiązania H1 do nukleosomu uwzględniające występowanie na końcach nukleosomowego DNA sekwencji AT-bogaty wykazało kluczowe znaczenie peptydu GXGAX dla rozpoznawania i wiązania tych sekwencji [2]. Obecność tego motywu w 'skrzydełku' umożliwia interakcje H1 poprzez wiązania hydrofobowe z grupami metylowymi tyminy w DNA. Co najważniejsze, interakcje te, jak wykazuje model, prowadzą do zaginania DNA na końcach fragmentu oddziałującego z cząstką rdzeniową, co ułatwia tworzenie struktur typu trzonek. Podobny mechanizm, wynikający z obecności konserwowanego penetapetydu, odpowiada za wysokie powinowactwo H1 do metylowanego DNA – właściwość o krytycznym znaczeniu dla stabilizacji wyższego rzędu struktur chromatynowych i skutecznej represji transkrypcji. W świetle powyższych danych hipoteza o istotnym adaptacyjnym znaczeniu opisywanej delekcji w genach kodujących H1 u roślin [10, 11] nabiera cech prawdopodobieństwa.

CZY ROŚLINY MOGĄ BYĆ MODELEM ROZSTRZYGAJĄCYM O UNIWERSALNEJ FUNKCJI BIOLOGICZNEJ I MECHANIZMIE DZIAŁANIA WARIANTÓW H1?

W trakcie wczesnych etapów rozwoju embrionalnego zwierząt, od owadów poprzez jeźowce do płazów i ssaków, następuje wymiana jednych wariantów H1 na inne. Wyrażane w zygocie matczyne warianty H1 są prawdopodobnie w znacznym stopniu odpowiedzialne za totipotencję wczesnych komórek zarodkowych [22]. Bardziej subtelne zmiany w profilu wariantów H1 cechują tkanki zróżnicowane. Uważa się, że strukturalne zróżnicowanie wariantów H1 u zwierząt pociąga za sobą różnice w sile oddziaływania z chromatyną zarówno w domenie globularnej, jak i w N- i C-końcowych ogonach i co za tym idzie, w stabilności struktur wyższego rzędu, co przekłada się na zdolność do represji transkrypcji.

Znaczna złożoność tkankowa zwierząt i duża liczba istniejących w nich wariantów H1, pomiędzy którymi występują niekiedy dość subtelne różnice w sile oddziaływania z DNA, sprawiają, że badania nad fizjologicznym znaczeniem zróżnicowania wariantowego H1 u tych organizmów są dość trudne. Rośliny, w szczególności *Arabidopsis*, stanowią pod tym względem nieporównanie prostszy obiekt badawczy. Jak dotąd, *Arabidopsis thaliana* jest jedynym znanym złożonym organizmem wielokomórkowym, w którym, obok dwóch bardzo podobnych wariantów somatycznych H1-1 i H1-2, występuje tylko jeden wyspecjalizowany wariant, mianowicie indukowany stresem H1-3. Gen kodujący ten wariant, w odróżnieniu od genów kodujących pozostałe dwa warianty, zawiera promotor z bardzo silnym motywem sterowanym przez kwas abscysynowy (ABA), uniwersalny hormon stresu u roślin [4]. ABA jest fitohormonem, którego główną rolą w odpowiedzi na stres

jest szybka przebudowa profilu transkrypcyjnego komórek, w celu zaadaptowania rośliny do zmienionych warunków zewnętrznych [5]. Potraktowanie roślin *Arabidopsis* ABA powoduje natychmiastową indukcję transkrypcji genu kodującego H1-3 [K. Rutowicz i in., niepubl.]. Porównanie dynamiki wymiany trzech wariantów H1 w chromatynie *Arabidopsis in vivo* za pomocą techniki FRAP wykazało dramatyczną różnicę między H1-1 i H1-2 a indukowanym stresem H1-3 [J. Puzio i in., niepubl.]. Średni czas przebywania w kompleksie z chromatyną jest wielokrotnie krótszy dla H1-3 niż dla pozostałych dwóch histonów, co wskazuje na bardzo istotne różnice w sposobie i sile wiązania się wariantów do DNA. Znajduje to pełne potwierdzenie we wnioskach z analizy porównawczej wykonanej na modelach GH1 i N- i C-końcowych ogonów H1-1, H1-2 i H1-3 [Ł. Knizewski i in., niepubl.]. Powyższe dane wskazują, że umiejętne zastosowanie modelu roślinnego, szczególnie *Arabidopsis* i tytoniu, który stanowi doskonały obiekt do badań biochemicznych i strukturalnych nad H1, może odpowiedzieć na wiele pytań dotyczących biologicznej roli i mechanizmu działania wariantów H1 u złożonych organizmów eukariotycznych.

H1 U ROŚLIN MOŻE MIEĆ FUNKCJĘ POZACHROMATYNOWĄ

Podobnie jak w komórkach zwierzęcych, również w komórkach roślin wyższych struktury mikrotubularne odgrywają podstawową rolę w podziałach komórkowych, wzroście i różnicowaniu. U zwierząt ośrodkiem organizacji mikrotubul regulującym ich liczbę, lokalizację i orientację w komórkach jest centrosom zawierający dwie centriole. W centrosomie występują struktury o kształcie pierścienia zbudowane z γ -tubuliny. Stanowią one miejsca zapoczątkowujące wzrost pojedynczej mikrotubuli. Wzrost ten polega na przyłączaniu do pierścienia γ -tubulinowego dimerów α/β -tubuliny, co powoduje wydłużanie się mikrotubuli od strony skierowanego na zewnątrz końca 'plus'. Przeciwny koniec 'minus' pozostaje związany z centrosomem. Funkcje centrioli nie są do końca wyjaśnione. Wydaje się, że nie biorą one bezpośredniego udziału w kariokinezie, jednak z pewnością, jako ciała podstawowe, stanowią ośrodki organizacji mikrotubul w rzęskach i wiciach. W 1992 r. Multignier i wsp. [17] wykazali, że u jeżowca i u *Chlamydomonas* czynnik stabilizujący mikrotubule wiciowe jest identyczny z histonem H1 występującym w chromatynie. Autorzy ci zasugerowali wówczas, że struktury mikrotubularne i chromatynowe podlegały sprzężonej ewolucji, a rolę kluczowego pośrednika w tym sprzężeniu odgrywał histon H1. Analiza korelacji między cechami H1 a funkcjonalno-morfologicznymi właściwościami różnych organizmów wykazała, że tylko te organizmy, u których mRNA H1 zawiera na 3' końcu charakterystyczną spinkę zamiast ciągu poliA, produkują gamety obdarzone wicią i przechodzą klasyczny podział komórkowy, w którym bieguny wrzeciona organizują się wokół centrioli [11]. Jedną z fundamentalnych różnic między komórkami roślin wyższych (u których mRNA histonu H1 nie zawiera spinki) a komórkami roślin niższych i zwierząt jest brak u tych pierwszych typowych centrosomów

i ciałek podstawowych, które mogłyby pełnić funkcję ośrodków organizacji mikrotubul. Uważa się, że u roślin wyższych ośrodki o aktywności organizującej mikrotubule są rozproszone na powierzchni jądra komórkowego. Niedawno wykazano, że czynnikiem organizującym mikrotubule radialne w komórkach BY-2 tytoniu jest rozproszony na peryferiach jądra histon H1B, ten sam, który występuje w chromatynie [18]. Jakże może być wyjaśnienie tego zjawiska? Jeden z możliwych scenariuszy przewiduje, że H1 pełni tu rolę koordynatora między stanem chromosomów a aktywnością systemu włókienek mikrotubularnych. W stanie pełnej kondensacji chromosomów część H1 jest z nich aktywnie usuwana i zwiększa pulę wolnego H1, który przemieszcza się do obszaru okołojądrowego, gdzie indukuje polimeryzację mikrotubul [11].

PODSUMOWANIE

U roślin, podobnie jak u zwierząt, histony H1 pełnią funkcję globalnych i specyficznych modulatorów dostępności DNA, a także elementów architektonicznych wpływających na regularność i stabilność wyższego rzędu struktur przestrzennych chromatyny. Rośliny, ze względu na prostszą budowę i niższą złożoność tkankową, są znacznie dogodniejszym niż zwierzęta modelem do badania uniwersalnych mechanizmów funkcjonowania wariantów H1. Jednocześnie, analiza strukturalna i funkcjonalna H1 u roślin odślania zupełnie nieoczekiwane i trudne do wydedukowania z modelu zwierzęcego, potencjalnie bardzo stare i podstawowe funkcje H1 w ewolucji głównych linii organizmów wielokomórkowych – roślin i zwierząt, i kształtowaniu ich z gruntu odmiennych strategii życiowych.

LITERATURA

- [1] CATEZ F, UEADA T, BUSTIN M. Determinants of histone H1 mobility and chromatin binding in living cells. *Nat Struct Biol* 2006; **13**: 305–310.
- [2] CUI F, ZHURKIN VB. Distinctive sequence patterns in metazoan and yeast nucleosomes: implications for linker histone binding to AT-rich and methylated DNA. *Nucleic Acids Res* 2009; **37**: 2818–2829.
- [3] FAN Y, NIKITINA T, ZHAO J, FLEURY TJ, BHATTACHARYYA R, BOUHASSIRA EE, STEIN A, WOODCOCK CL, SKOULTCH, AI. Histone H1 depletion in mammals alters global chromatin structure but causes specific changes in gene regulation. *Cell* 2005; **123**: 1199–1212.
- [4] FINKELSTEIN R, GAMPALA S, ROCK C. Abscisic acid signaling in seeds and seedlings. *Plant Cell* 2002; **14**: S15–S45.
- [5] HIRAYAMA T, SHINOZAKI K. Perception and transduction of abscisic acid signals: keys to the function of the versatile plant hormone ABA. *Trends Plant Sci* 2007; **12**: 343–351.
- [6] IZZO A, KAMIENIARZ K, SCHNEIDER R. The histone family: specific members, specific functions? *Biol Chem* 2008; **389**: 333–343.
- [7] JERZMANOWSKI A, COLE RD. Flanking sequences of *Xenopus* 5S RNA genes determine differential inhibition of transcription by H1 histone *in vitro*. *J Biol Chem* 1990; **265**: 10726–10732.
- [8] JERZMANOWSKI A, PRZEWŁOKA M, GRASSER K. Linker histones and HMG1 proteins of higher plants. *Plant Biol* 2000; **2**: 586–597.
- [9] JERZMANOWSKI A. The linker histones. W: Zlatanova J, Leuba SH. [red.] Chromatin Structure and Dynamics: State-of-the-Art. London, New York: Elsevier B.V. 2004: 75–102.

- [10] JERZMANOWSKI, A. SWI/SNF chromatin remodeling and linker histones in plants. *Biochim Biophys Acta* 2007; **1769**: 330–345.
- [11] KACZANOWSKI S, JERZMANOWSKIA. Evolutionary correlation between linker histones and microtubular structures. *J Mol Evol* 2001; **53**: 19–30.
- [12] KARETSOU Z, SANDALTZOPOULOS R, FRANGOU-LAZARIDIS M, LAI CY, TSOLAS O, BECKER PB, PAPAMARCAK T. Prothymosin a modulates the interaction of histone H1 with chromatin. *Nucleic Acids Res* 1998; **26**: 3111–3118.
- [13] KIM K, CHOI J, HEO K, KIM H, LEVENS D, KOHNO K, JOHNSON EM, BROCK HW, AN W. Isolation and characterization of a novel H1.2 complex that acts as a repressor of p53-mediated transcription. *J Biol Chem* 2008; **283**: 9113–9126.
- [14] LEE H, HABAS R, ABATE-SHEN C. MSX1 cooperates with histone H1b for inhibition of transcription and myogenesis. *Science* 2004; **304**: 1675–1678.
- [15] LEVER MA, TH'NG JP, SUN X, HENDZEL MJ. Rapid exchange of histone H1.1 on chromatin in living human cells. *Nature* 2000; **408**: 873–876.
- [16] MISTELI T, GUNJAN A, HOCK R, BUSTIN M, BROWN DT. Dynamic binding of histone H1 to chromatin in living cells. *Nature* 2000; **408**: 877–881.
- [17] MULTIGNER L, GAGNON J, VAN DORSSELAER A, JOB D. Stabilization of sea urchin flagellar microtubules by histone H1. *Nature* 1992; **360**: 33–39.
- [18] NAKAYAMA T, ISHII T, HOTTA T, MIZUNO K. Radial microtubule organization by histone H1 on nuclei of cultured tobacco BY-2 cells. *J Biol Chem* 2008; **283**: 16632–16640.
- [19] PRYMAKOWSKA-BOSAK M, PRZEWŁOKA M, SLUSARCZYK J, KURAS, M, LICHOTA J, KILIAN-CZYK B, JERZMANOWSKI A. Linker histones play a role in male meiosis and the development of pollen grains in tobacco. *Plant Cell* 1999; **11**: 2317–2329.
- [20] PRYMAKOWSKA-BOSAK M, PRZEWŁOKA M, IWKIEWICZ J, EGIERSZDORFF S, KURAS M, CHAUBET N, GIGOT C, SPIKER S, JERZMANOWSKIA. Histone H1 overexpressed to high level in tobacco affects certain developmental programs but has limited effect on basal cellular functions. *Proc Natl Acad Sci USA* 1996; **93**: 10250–10255.
- [21] PRZEWŁOKA MR, WIERZBICKI AT, ŚLUSARCZYK J, KURAS M, GRASSER KD, STEMMER C, JERZMANOWSKIA. The 'drought-inducible' histone H1s of tobacco play no role in male sterility linked to alterations in H1 variants. *Planta* 2002; **215**: 371–379.
- [22] SAEKI H, OHSUMI K, HITOSHI A, ITO T, HIROSE S, URA K, KANEDA Y. Linker histone variants control chromatin dynamics during early embryogenesis. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005; **102**: 5697–5702.
- [23] SANCHO M, DIAN, E, BEATO M, JORDAN A. Depletion of human histone H1 variants uncovers specific roles in gene expression and cell growth. *PLoS Genet* 2008; **4**: e1000227. doi:10.1371/journal.pgen.1000227.
- [24] TOMASZEWSKI R, JERZMANOWSKI A. The AT-rich flanks of the oocyte-type 5S RNA gene of *Xenopus laevis* act as a strong local signal for histone H1-mediated chromatin reorganization *in vitro*. *Nucleic Acids Res* 1997; **25**: 458–465.
- [25] TOMASZEWSKI R, MOGIELNICKA E, JERZMANOWSKIA. Both the 5S rRNA gene and the AT-rich flanks of *Xenopus laevis* oocyte-type 5S rDNA repeat are required for histone H1-dependent repression of pol III-type genes in *in vitro* reconstituted chromatin. *Nucleic Acids Res* 1998; **26**: 5596–5601.
- [26] VAQUERO A, SCHER M, LEE D, ERDJUMENT-BROMAGE H, TEMPST P, REINBERG D. Human SirT1 interacts with histone H1 and promotes formation of facultative heterochromatin. *Mol Cell* 2004; **16**: 93–105.
- [27] WIERZBICKI AT, JERZMANOWSKIA. Suppression of histone H1 genes in *Arabidopsis thaliana* results in heritable developmental defects and stochastic changes in DNA methylation. *Genetics* 2005; **16**: 997–1008.
- [28] WOODCOCK C., SKOULTCHI AI, FAN Y. Role of linker histone in chromatin structure and function: H1 stoichiometry and nucleosome repeat length. *Chromosome Res* 2006; **14**: 17–25.
- [29] ZHOU, Y-B, GERCHMAN SE, RAMAKRISHNAN V, TRAVERS A, MUYLDERMANS G. Position and orientation of the globular domain of linker histone H5 on the nucleosome. *Nature* 1998; **395**: 402–405.

Prof. dr hab. Andrzej Jerzmanowski
Wydział Biologii Uniwersytetu Warszawskiego
Instytut Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie
ul. Pawińskiego 5A, 02-106 Warszawa
e-mail: andyj@ibb.waw.pl