

Abstract

The objectives of this work were the prediction and the identification of large-scale chromatin decondensations within interphase chromosomes in a natural system. The total length of chromosomal DNA in eukaryotic cells is up to a hundred thousand times the cell's length, therefore the DNA is packed into a higher-order structure to fit into the limited volume of the nucleus. Upon transcription, the densely packed chromatin has to decondense in active regions in order to allow an interaction of DNA binding molecules with the DNA. In order to predict such decondensations, gene expression data - derived from DNA microarray - was mapped to chromosomal positions and a scoring system was developed which made it possible to find regions with different transcriptional activity. The scoring system revealed a region on human chromosome 22, which shows different levels of gene expression in three cell lines (K-562, Jurkat and Raji). This result led to the prediction, that a large-scale chromatin decondensation can be identified in the more active cell lines, and that the compaction rate will decrease with an increased transcriptional activity. To identify large-scale chromatin decondensations, the region was studied by means of DNA fluorescence in situ hybridization (FISH). Two probes (BACs) were hybridized to the begin and the end of the region, and the distance between the resulting fluorescence signals was measured in the three cell lines. The measurements of the distance in multiple cells from each cell line, revealed that the predicted large-scale chromatin decondensations exist and that the structure within the decondensed region is consistent with the "chromonema fiber" model of higher-order chromatin organisation. For a verification the cells were treated with DRB (5,6-dichloro-1- β -D-ribofuranosylbenzimidazole), in order to inhibit transcription. In treated cells the open region recondensed, which shows that the large-scale decondensation was due to transcriptional activity.

In conclusion the results show that it is possible to predict and identify large-scale chromatin decondensations caused by gene transcription.

Keywords: chromatin decondensation, chromonema fiber, interphase, FISH, transcription

Kurzfassung

Ziel dieser Arbeit war es, "umfangreiche Chromatin Dekondensationen" vorherzusagen und diese dann zu identifizieren. Die Gesamtlänge der chromosomalen DNA in eukaryotischen Zellen beträgt ein hunderttausendfaches der Länge einer Zelle. Um Platz im begrenzten Volumen eines Zellkerns zu finden, ist die DNA als Struktur höherer Ordnung verpackt. Während der Gentranskription in der Interphase muss das dicht gepackte Chromatin in aktiven Bereichen eine dekonensierte Konformation annehmen, damit eine Interaktion von DNA-bindenden Molekülen mit der DNA möglich wird. Um solche Dekondensationen vorherzusagen zu können, wurden Genexpressionsdaten von DNA-Microarrays auf die chromosomale Position eines jeweiligen Gens abgebildet und ein Bewertungssystem entwickelt, das es ermöglichte Bereiche mit unterschiedlicher Genexpression ausfindig zu machen. Mit Hilfe des Bewertungssystems wurde ein Bereich am menschlichen Chromosom 22 gefunden, der in drei Zelllinien (K-562, Jurkat und Raji) eine unterschiedliche transkriptionelle Aktivität aufweist. Die Annahme war, dass man in den aktiveren Zelllinien umfangreiche Chromatin Dekondensationen, in diesem Bereich beobachten könne, und dass die Packungsdichte bei einer erhöhten Genexpression abnimmt. Um solche umfangreiche Chromatin Dekondensationen identifizieren zu können, wurde der Bereich mit Hilfe der DNA FISH Technik untersucht. Zwei Sonden (BACs) wurden an den Anfang und das Ende des Bereichs hybridisiert, worauf dann in den drei Zelllinien der Abstand zwischen den beiden resultierenden Fluoreszenzsignalen gemessen wurde. Die Messungen des Abstandes in mehreren Zellen jeder Zelllinie ergaben, dass die vorhergesagten Dekondensationen tatsächlich existieren, und dass die Struktur des dekonensierten Bereichs dem "Chromonema Fiber Model" für die Chromatin Organisation höherer Ordnung entspricht. Als Kontrolle wurden die Zellen mit DRB (5,6-Dichloro-1- β -D-Ribofuranosylbenzimidazol) behandelt, um die Transkription zu inhibieren. Der Bereich lag nach der Inhibition wieder dicht gepackt vor, was beweist, dass die Dekondensation durch transkriptionelle Aktivität hervorgerufen wurde. Es ist also möglich, Chromatin Dekondensationen vorherzusagen und zu identifizieren.

Schlüsselwörter: Chromatin Dekondensation, Chromonema Fiber, Interphase, FISH, Transkription