

Anna KAZIENKO, Małgorzata PIASECKA, Anna RYMASZEWSKA, Dariusz GĄCZARZEWICZ, Rafał KURZAWA, Monika FRĄCZEK, Maciej KURPISZ, Maria LASZCZYŃSKA

Molekularne markery niepłodności męskiej: zmiany polimorficzne genów białek chromatyny plemnika – część I

Streszczenie: Specyficzne jądrowe histony, protaminy oraz białka przejściowe uczestniczą w unikalnej kondensacji chromatyny różnicującej się spermatydy. Sugeruje się, że protaminy ewolucyjnie mogą wywodzić się z histonu H1. Bogate w lizynę histony najprawdopodobniej uległy konwersji w protaminy – białka zawierające przede wszystkim argininę i cysteinę. Protamina 1 (P1) obecna jest u wszystkich ssaków, podczas gdy protamina 2 (P2) tylko u niektórych z nich. Geny protamin (*PRM1*, *PRM2*) oraz gen białka przejściowego 2 (*TNP2*) tworzą wspólną wielogenową domenę (*PRM1*→*PRM2*→*TPN2*) zlokalizowaną na chromosomie 16, natomiast gen białka przejściowego 1 (*TNP1*) kodowany jest na chromosomie 2. Występowanie genów we wspólnej domenie umożliwia jednoczesną ich ekspresję. W obrębie domeny, pomiędzy *PRM2* a *TNP2*, zlokalizowany jest pseudogen (*gen 4*), nazywany także protaminą 3. Produkt białkowy genu 4, w przeciwieństwie do pozostałych genów domeny, nie bierze udziału w kondensacji plemnikowego DNA, najprawdopodobniej powiązany jest z ruchliwością gamet męskich. Za usuwanie histonów jądrowych z DNA odpowiedzialne jest przede wszystkim białko TP1, natomiast TP2 bierze udział w kondensacji chromatyny różnicującej się spermatydy. Dwa egzony i pojedynczy intron wchodzi w skład genów nukleoprotein. Zmiany pojedynczych nukleotydów (SNP, ang. *Single Nucleotide Polymorphism*) identyfikowano zarówno w ich regionach niekodujących, jak i kodujących. W przypadku tych ostatnich efektem zmian polimorficznych mogą być substytucje synonimiczne i niesynonimiczne. Obecne badania wskazują, że najbardziej istotnymi SNP w regionach niekodujących są zmiany w promotorze (c.-107G>C, c.-190C>A w *PRM1*) i 3'UTR (ang. *Untranslated Region*, c.+62G>C w *PRM2*) genów protamin, w promotorze (c.-688A>T, 15-sto nukleotydomowa delecja -91 do -106 w *TNP1*) i w obrębie intronu (c.1030G>A w *TNP2*) genów białek przejściowych. Zmianę c.-107G>C w *PRM1* zidentyfikowano u pacjentów z oligozoospermią oraz mężczyzn z nieznaną płodnością, zmienność polimorficzna c.-190C>A w *PRM1* wiąże się z zaburzoną morfologią plemników, zmianę c.+62G>C w *PRM2* wykryto u mężczyzn z obniżonym stosunkiem P1/P2. Polimorfizmy genu *TNP1* c.-688A>T i 15-sto nukleotydomową delecją od -91 do -106 oraz SNP c.1030G>A w *TNP2* opisano u pacjentów z azoospermią. Wymienione polimorfizmy mogą powodować zaburzenia przyłączenia czynników transkrypcyjnych lub translacyjnych, co w konsekwencji może wywoływać deprotaminację i prowadzić do obniżenia płodności mężczyzny. Jednakże, większość identyfikowanych podstawień nie odgrywa znaczącej roli w etiopatogenezie męskiej sterylności. Występują one z niską częstością, stanowią rzadkie polimorfizmy i wykrywa się je z podobną częstością zarówno u mężczyzn płodnych, jak i niepłodnych. Różne opinie, co do istotności zmian polimorficznych mogą wynikać z etnicznego zróżnicowania badanych mężczyzn, jak również mogą być efektem jeszcze innych nie wykrytych zmian genetycznych, które towarzyszą męskiej niepłodności. Sugeruje się prowadzenie dalszych poszukiwań molekularnych markerów niepłodności męskiej w obrębie genów kodujących nukleoproteiny męskich komórek rozrodczych.

Słowa kluczowe: plemnik, chromatyna, DNA, protaminy, SNP, polimorfizm

Anna KAZIENKO, Małgorzata PIASECKA, Anna RYMASZEWSKA, Dariusz GĄCZARZEWICZ, Rafał KURZAWA, Monika FRĄCZEK, Maciej KURPISZ, Maria LASZCZYŃSKA

Molekularne markery niepłodności męskiej: zaburzenia transkrypcji i translacji protamin chromatyny plemnika – część II

Streszczenie: Niepłodność męska może być powiązana z zaburzeniami kondensacji chromatyny plemników wynikającymi między innymi z nieprawidłowości struktury i ilości protamin. Podłożem tych zmian są nie tylko nieprawidłowe sekwencje nukleotydowe genów tych białek, ale także zaburzenie ich ekspresji i translacji. Stąd też badania dotyczące regulacji tych procesów są przedmiotem wielu badań doświadczalnych, które starają się ujawnić molekularne podłoże męskiej sterility, szczególnie idiopatycznej. W mejotycznych spermatocytach i w okrągłych spermatydach zachodzi proces transkrypcji genów protamin, natomiast w wydłużających się spermatydach – proces translacji. Regulacja transkrypcji kontrolowana jest za pomocą metylacji DNA oraz wiązania się czynników transkrypcyjnych do sekwencji promotorowych (TFIID, TFIIA) i polimerazy II RNA (TAFII τ , ang. *testis specific isoform ALF*). W komórkach germinalnych zawartość i rodzaj czynników transkrypcyjnych jest zdecydowanie inna w porównaniu do komórek somatycznych. Zwraca się uwagę na istotną rolę czynnika transkrypcyjnego CREM, który może aktywować i hamować ekspresję wielu ważnych podczas spermatogenezy genów, w tym genów protamin. CREM jest aktywowany przez cAMP i alternatywnie przez ACT (ang. *LIM-domain family proteins, LIM-only protein*). Ponadto istotną rolę w ekspresji omawianych genów odgrywa macierz jądrowa, wiążąca się z obszarami DNA (MAR, ang. *specific-haploid Matrix Attachment Regions*) ograniczającymi z dwóch stron wielogenową domenę PRM1?PRM2?TNP2, zawierającą odpowiednio locus dla genu protaminy 1 i 2 oraz białka przejściowego 2. Jądrowa adenylacja pierwotnych transkryptów protamin, wraz z białkami regulatorowymi (PABP, ang. *Polyadenylate Binding Protein*, białka z rodziny Y-box), powoduje ich stabilizację i uniemożliwia translację. Z kolei cytoplazmatyczna deadenylacja tych transkryptów i oddysocjowanie czynników transkrypcyjnych/translacyjnych znosi represję translacji. Na szczególną uwagę zasługują miRNA, które wiążąc się z mRNA powodują jego cięcie lub też inhibicję translacji. Wkrótce po syntezie protamin ale przed ich inkorporacją do DNA, odbywa się fosforylacja tych białek, która umożliwia im związanie się ze zidentyfikowanym receptorem LBR (ang. *Lamin B Receptor*) w obrębie lamin jądrowych. Z kolei, uwolnienie protamin z receptora wymaga ich defosforylacji i w dalszym etapie umożliwia wymianę białek przejściowych na protaminy.

Słowa kluczowe: plemnik, chromatyna, DNA, protaminy, transkrypcja, translacja