



Doctoral Thesis

Correlation between gene activity and chromatin structure in mouse erythroleukemia cells

Author(s):

Conconi, Antonio

Publication Date:

1987

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-000473150> →

Rights / License:

[In Copyright - Non-Commercial Use Permitted](#) →

This page was generated automatically upon download from the [ETH Zurich Research Collection](#). For more information please consult the [Terms of use](#).

22. Dez. 1987

Diss. ETH

Diss. ETH No 8448

**CORRELATION BETWEEN GENE ACTIVITY AND CHROMATIN STRUCTURE IN
MOUSE ERYTHROLEUKEMIA CELLS.**

A dissertation submitted to the
SWISS FEDERAL INSTITUTE OF TECHNOLOGY ZURICH
for the degree of
Doctor of Natural Sciences

presented by

ANTONIO CONCONI

Dipl. Natw. ETH
born January 5, 1959
citizen of Novazzano (Ticino)

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. Th. Koller, examiner
Dr. J.M. Sogo, co-examiner

1987

ETHICS ETH-BIB



00100000842868



CatE

Th. Koller

ZUSAMMENFASSUNG

Kerne von Friend-Erytroleukemie-Zellen wurden mit Micrococcus-Nuklease verdaut und die Chromatinstruktur von verschiedenen aktiven Genen untersucht.

Von einer cDNA-Bibliothek, die auf verschiedene RNA-Elongations-Aktivitaeten in isolierten Kernen getestet wurde, wurden DNA-Sequenzen von Genen erhalten, die von der RNA-Polymerase II unterschiedlich stark transkribiert werden. Fuer die Chromatinanalyse waehlte ich drei Klone aus. Klon 120 zeigte die hoechste in vitro-Elongations-Aktivitaet (welche trotzdem nur ungefaehr 12% derjenigen von RNA-Polymerase I entsprach). Klon 101 zeigte eine RNA-Elongations-Aktivitaet, die nicht ueber den Background hinausging. Als Kontrolle fuer ein nicht exprimiertes Gen brauchte ich einen cDNA Klon von einer konstanten Genregion eines Immunglobulins ($Ig\mu$). Wenn diese drei Klone als radioaktive Hybridisierungsprobe gebraucht wurden, zeigten sie keinen Unterschied fuer die Micrococcus-Nuklease-Verdauung der entsprechenden Gene. Wenn man annimmt, dass die RNA-Polymerase II alle Gene mit der gleichen Geschwindigkeitsrate abliest, lassen meine Experimente vermuten, dass der Transkriptionsprozess die allgemeine Chromatinstruktur nicht beeinflusst. Die Chromatinstruktur der ribosomalen Gene, welche von der RNA-Polymerase I transkribiert werden, wurde ebenfalls untersucht, und zwar unter Bedingungen, wo die Gene verschieden aktiv transkribiert werden. Die ribosomale RNA-Elongations-Aktivitaet in Kernen von stationaeren Zellen war nur ungefaehr 10% derjenigen von exponentiell wachsenden Zellen. Als potentiell inaktive Kontrolle wurde die Chromatinstruktur der ribosomalen Gene in Metaphase-Zellen studiert. Interphase-Zellen von stationaeren oder logarithmisch wachsenden Kulturen zeigten keinen Unterschied in der Chromatinstruktur. Dies laesst vermuten, dass die aktive Chromatinstruktur nicht vom Transkriptionsprozess

abhaengig ist. Im Vergleich zu den Interphase-Zellen beobachtete ich jedoch einen deutlichen Unterschied in der Struktur des ribosomalen Chromatins von Metaphase-Chromosomen, welches wie bulk-Chromatin zu sein scheint. Dies weist wiederum darauf hin, dass andere Faktoren als die Transkription die Chromatinstruktur bestimmen. Indem ich einzelstrangspezifische Proben benutzte, war es moeglich im ribosomalen Chromatin von Interphasekernen fuer den kodierenden und den nicht-kodierenden Strang die Protektion gegen Micrococcus-Nuklease-Verdauung separat zu untersuchen. Die Degradationsgeschwindigkeit fuer die beiden Straenge scheint verschieden zu sein. Da die Verdauung mit Micrococcus-Nuklease eine nukleosomale Leiter auf einem stark schmierenden Hintergrund zeigt, schliessen wir, dass die Struktur des aktiven ribosomalen Chromatins unregelmassig ist. Im gegebenen Zeitpunkt kann nicht entschieden werden, welcher Chromatinfraction die asymmetrische Degradation der beiden DNA-Straenge zuzuordnen ist, ob der Fraction, die in der Verdauung einen Schmier produziert oder derjenigen die eine nukleosomale Leiter ergibt.

SUMMARY

Using micrococcal nuclease digestion of nuclei from Friend erythroleukemia cells I have analyzed the chromatin structure along genes with different transcriptional activities.

DNA sequences from genes transcribed by RNA polymerase II with different levels of activity were obtained from a cDNA library which was screened for different run-on activities in isolated nuclei. For the chromatin analysis I selected three clones. Clone 120 revealed the highest RNA polymerase II run-on activity, (which however was still only about 12% of that of RNA polymerase I). Clone 101 revealed a run-on activity which was not detectable above background. As control for a not-expressed gene I used a cDNA clone from an immunoglobulin constant region gene (*I_g μ*). All three clones when used as radioactive hybridization probes, revealed no difference in the micrococcal nuclease digests of the corresponding genes. If one assumes that RNA polymerase II transcribes all the genes at the same rate, then my experiments suggest that, within the resolution of the method used, the transcription process does not influence the overall chromatin structure.

The chromatin structure of the ribosomal genes which are transcribed by RNA polymerase I, was also analysed under conditions of different transcriptional activities. The ribosomal run-on activity in nuclei from stationary cells was only about 10% of that of exponentially growing cells. As putative inactive control the chromatin structure of the ribosomal genes in metaphase cells was studied. In the interphase cells of stationary and logarithmically growing cultures no difference was seen in the chromatin structure. This suggests that the overall active chromatin structure is independent from the transcription process. In contrast I observed a clear structure difference of the ribosomal chromatin in metaphase chromosomes as compared to the

interphase cells, which appeared similar to bulk chromatin. This again indicates, that factors different from transcription determine chromatin structure.

Using single-strand specific probes I have been able to study separately the protection against micrococcal nuclease digestion of the coding and the non-coding strand in the ribosomal chromatin of interphase nuclei. The speed of degradation appears to be different for the two strands. The overall active ribosomal chromatin structure appears to be irregular since the micrococcal nuclease digests show a nucleosomal repeat, however, with a strong underlying smear. At present it cannot be decided whether the asymmetric degradation of the two DNA strands is due to the chromatin fraction which yields the smear, or that which yields the nucleosomal repeat in the micrococcal nuclease digests.