



Doctoral Thesis

Site-directed mapping of yeast ISW1a chromatin remodeling factor nucleosome complexes

Author(s):

Angst, Brigitte Madelaine

Publication Date:

2012

Permanent Link:

<https://doi.org/10.3929/ethz-a-007333221> →

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](#).

Site-Directed Mapping of Yeast ISW1a Chromatin Remodeling Factor · Nucleosome Complexes

A dissertation submitted to

ETH ZURICH

for the degree of

Doctor of Sciences

presented by

BRIGITTE MADELAINE ANGST

Dipl. Natw. ETH

born April 5, 1980

citizen of

Zurich ZH and Wil ZH

accepted on the recommendation of

Prof. Dr. T. J. Richmond, examiner

Prof. Dr. S. Werner, co-examiner

Prof. Dr. R. Glockshuber, co-examiner

2012

Summary

ATP-dependent chromatin remodeling factors play an important role in the regulation of chromatin structure and DNA accessibility during many nuclear processes. Remodeling functions are highly diverse and include repositioning of nucleosomes by sliding, complete nucleosome removal by octamer eviction, exchange of canonical histones for histone variants, and regular spacing of nucleosomes in long arrays, a process that is considered essential in the formation of higher order chromatin structures (Clapier and Cairns, 2009).

The work in this thesis focusses on the yeast ISW1a chromatin remodeling factor which exhibits nucleosome spacing activity and which is involved in the repression of numerous genes at transcription initiation through the positioning of a promoter proximal dinucleosome (Morillon et al., 2003; Pinskaya et al., 2009). Site-directed mapping approaches were applied to probe the ISW1a-nucleosomal-DNA binding interface and to analyze the repositioning of nucleosomes during ISW1a remodeling reactions.

Our results reveal that ISW1a binds mononucleosomes in opposite orientations depending on whether the nucleosome is flanked by extranucleosomal DNA only on one or on both sides. Our findings imply that ISW1a can simultaneously interact with two neighboring nucleosomes, and we therefore suggest a model in which ISW1a binds to a dinucleosome unit, keeping one nucleosome as a fixed reference point towards which the second nucleosome is remodeled, thereby suggesting a mechanism for the observed ISW1a nucleosome spacing activity (Yamada et al., 2011). Additional work aimed at validating this model includes mapping of the ISW1a binding orientation on dinucleosomal substrates and analysis of nucleosome repositioning in ISW1a remodeling reactions run on dinucleosomal substrates.

Zusammenfassung

ATP-abhängige Chromatin Remodeling Faktoren spielen eine wichtige Rolle bei vielen nukleären Prozessen, indem sie die Chromatinstruktur und damit die DNA Zugänglichkeit regulieren. Die Remodeling-Funktionen dieser Faktoren sind sehr unterschiedlich und beinhalten diverse Mechanismen wie etwa das Repositionieren von Nukleosomen durch Verschiebung, das Auflösen von Nukleosomen durch Entfernen des Histon Oktamers, den Austausch von kanonischen Histonen mit Histonvarianten oder das äquidistante Anordnen von Nukleosomen auf längeren Abschnitten. Letzteres ist ein Prozess der bei der Ausbildung von Chromatinfasern und komplexeren Chromatinstrukturen als essentiell erachtet wird (Clapier and Cairns, 2009).

Diese Dissertation beschäftigt sich mit dem Remodeling Faktor ISW1a aus der Bäckerhefe *Saccharomyces Cerevisiae*, der Nukleosomen äquidistant anordnet und welcher durch das Positionieren eines Dinukleosoms am Promotor bei der Repression der Transkriptionsinitiierung zahlreicher Gene beteiligt ist (Morillon et al., 2003; Pinskaya et al., 2009). Mittels spezifischem, ortsgerichtetem Mapping wurde die ISW1a-Nukleosom-Interaktion und das Repositionieren der Nukleosomen in ISW1a abhängigen Remodeling-Reaktionen untersucht.

Unsere Resultate zeigen, dass der ISW1a Faktor Nukleosomen mit entgegengesetzter Orientierung bindet, je nachdem ob das Nukleosom nur auf der einen Seite oder auf beiden Seiten von extranukleosomalen DNA flankiert wird. Unsere Ergebnisse deuten darauf hin, dass ISW1a gleichzeitig mit zwei benachbarten Nukleosomen interagiert. Deshalb schlagen wir ein Modell vor, in welchem der ISW1a Faktor an eine Dinukleosomeinheit bindet, so dass er eines der Nukleosomen als fixen Referenzpunkt benutzt, gegen welchen er das zweite Nukleosom verschiebt. Diese Beobachtung impliziert einen Mechanismus für die beobachtete Fähigkeit von ISW1a, Nukleosome äquidistant anzuordnen (Yamada et al., 2011). Um dieses Modell zu validieren wurden noch zusätzliche Experimente durchgeführt. Diese beinhalten Untersuchungen der ISW1a-Dinukleosom-Interaktion und die Analyse der Nukleosomrepositionierung in ISW1a abhängigen Remodeling-Reaktionen mit Dinukleosomsubstraten durch spezifisches, ortsgerichtetes Mapping.